

**PEMANFAATAN BAKTERI ANTAGONIS LUMPUR SIDOARJO
UNTUK MENEKAN *Sclerotium rolfsii* Sacc. PENYEBAB
PENYAKIT REBAH SEMAI PADA TANAMAN KEDELAI**

Oleh:

INTAN FUJI ARRIANI



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG
2015**

**PEMANFAATAN BAKTERI ANTAGONIS LUMPUR SIDOARJO UNTUK
MENEKAN *Sclerotium rolfsii* Sacc. PENYEBAB PENYAKIT REBAH
SEMAI PADA TANAMAN KEDELAI**

Oleh:

INTAN FUJI ARIANI

12504020011113

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



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

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul : Pemanfaatan Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo Untuk Menekan *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai

Nama : Intan Fuji Arriani

NIM : 125040200111113

Jurusan : Hama Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama, Pembimbing Pendamping,

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

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIP. 201409 880504 2 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan

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

Tanggal persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

Prof. Dr. Ir Abdul Latief Abadi., MS. Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIP. 19550821 198002 1 002 NIK. 201409 880504 2 001

Penguji III

Penguji IV

Dr. Ir Gatot Mudjiono Luqman Ourata Aini, SP., M.Si., Ph.D
NIP. 19520125 197903 1 001 NIP. 19720919 199802 1 001

Tanggal lulus:

RINGKASAN

INTAN FUJI ARIANI. 12504020011113. Pemanfaatan Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo untuk Menekan *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai. Dibawah bimbingan Luqman Qurata Aini SP., M.Si., Ph.D sebagai pembimbing utama dan Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc sebagai pembimbing pendamping.

Tanaman kedelai tergolong salah satu komoditas pangan strategis di Indonesia, Hal ini dikarenakan komoditas kedelai merupakan tanaman pangan penting setelah beras dan jagung. Namun, produksi kedelai provinsi Jawa Timur pada tahun 2015 mengalami penurunan menjadi 350.066 ton dibanding pada tahun 2014 sebesar 355.464 ton. Salah satu penyakit penting pada tanaman kedelai adalah penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *Sclerotium rolfsii*. Salah satu upaya pengendalian serangan jamur patogen *S. rolfsii* yaitu dengan penggunaan agens hidup. Salah satu contoh mikroba antagonis yang digunakan adalah bakteri. Salah satu kendala penggunaan bakteri antagonis sebagai agen biokontrol ialah efektifitasnya berkurang pada kondisi lingkungan yang ekstrem. Oleh karena itu dibutuhkan bakteri yang mampu beradaptasi dan bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrem. Salah satu contoh kawasan tersebut yaitu lumpur Sidoarjo.

Penelitian dilakukan di laboratorium bakteriologi dan rumah kaca Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya malang dimulai pada bulan Januari hingga Mei 2016. Pengujian bakteri antagonis dengan jamur patogen *S. rolfsii* dilakukan secara dua tahap. Pengujian tahap pertama dilakukan secara *in vitro* pada media buatan (media *Natrium Agar*). Sedangkan pengujian tahap kedua dilakukan secara *in vivo* dirumah kaca Pengujian bakteri antagonis tersebut menggunakan perlakuan 5 isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo dan fungisida berbahana aktif pyrasklostrobin sebagai banding.

Hasil seleksi bakteri lumpur Sidoarjo dari 15 isolat diperoleh 5 isolat bakteri mempunyai sifat antagonis terhadap jamur patogen *S. rolfsii* yaitu LUSI 93, LUSI 43, LUSI 16, LUSI 6, dan LUSI 54. Lima isolat bakteri lumpur Sidoarjo mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* dan menekan penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. Hasil pengujian secara *in vitro* menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo berpengaruh nyata terhadap perlakuan fungisida yaitu isolat LUSI 93, LUSI 54, LUSI 16, dan LUSI 6. Sedangkan pada pengujian secara *in vivo* bakteri antagonis lumpur Sidoarjo berpengaruh nyata terhadap kontrol pada 7 HSI dengan nilai kemampuan menghambat yang sama antara bakteri lumpur Sidoarjo dengan fungisida. Mekanisme penghambatan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo yaitu antibiosis yang ditandai munculnya zona bening pada media yang diberi perlakuan. Hasil identifikasi dan karakterisasi bakteri antagonis lumpur Sidoarjo kode LUSI 93 termasuk kedalam genus *Vibrio* sp. Sedangkan ah untuk kode LUSI 54, LUSI 16, LUSI 43, dan LUSI 6 sudah diidentifikasi oleh penelitian sebelumnya secara berturut-turut termasuk kedalam genus *Corynebacterium* sp, *Vibrio* sp, *Erwinia* sp, dan *Corynebacterium* sp.

SUMMARY

INTAN FUJI ARIANI. 12504020011113. Utilization Antagonistic Bacteria Lumpur Sidoarjo to Press *Sclerotium rolfsii* Sacc. Caused Diseases in Soybean Damping Off Supervised by Luqman Qurata Aini SP.,M.Si.,Ph.D as Primary Supervisor dan Restu Rizkyta Kusuma SP.,M.Sc as Supervisor.

Soybean plants is a strategic commodity in Indonesia, because soybean is an important crop food after rice and maize. But, the province of East Java soybean production decreased compared in 2014 its around 355 464 ton become 350. 066 ton in 2015. One of the important diseases that attack soybean plants is damping off caused by pathogenic fungi *S. rolfsii*. One effort to suppress attack from pathogenic fungi it *S. rolfsii* attack is by using biological agents. Biological agents is the use of microbial antagonists. One example of the use microbial antagonists. Is Bacteria. The use of antagonistic bacteria often found an obstacles it should be low of the effectiveness in extreme environmental conditions. Therefore it needed bacteria that can be able to adapt and survive in ekstrem environment. One example of that areas is lumpur Sidoarjo.

The study was conducted bacteriological laboratory and greenhouse Department of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya Malang starts in January and May 2016. Trial of antagonistic bacteria with fungi *S. rolfsii* in 2 stages. The first step *in vitro* is test the artificial media (media NA) and the second test *in vivo* is soybean crop in glass house. The antagonistic bacteria testing using five treatments of bacterial isolates lumpur Sidoarjo and fungicides pyrasklostrobin as a comparison.

The result of the selection of the lumpur Sidoarjo bacterial isolates obtained 15 and 5 bacteria have antagonistic properties against pathogenic fungi *S. rolfsii* is isolates LUSI 93, LUSI 43, 16 LUSI, LUSI 6, and LUSI 54. Five isolates is able to inhibit growth of the pathogen *S. rolfsii* and suppress damping off on soybean. Based on the results of a study trial is antagonistic bacteria of lumpur Sidoarjo was significantly affect the growth of the pathogen *S. rolfsii* *in vitro*. Results of studies suggest the treatment of bacterial antagonist lumpur Sidoarjo significantly affect on fungicide that is LUSI 93, 54 LUSI, LUSI 16, and LUSI 6. Meanwhile in lumpur Sidoarjo antagonistic bacteria trial *in vivo* was significantly affect to growth of damping off *in vivo* in 7 HSI with the same value of the ability to inhibit the bacterial antagonist lumpur Sidoarjo with a fungicide. The mechanism of inhibition of bacterial antagonists lumpur Sidoarjo is antibiosis with marked the emergence of a clear zone on the media treated. The identification and characterization of antagonistic bacteria lumpur Sidoarjo is LUSI 93 belongs to the genus *Vibrio* sp. And for LUSI 54, 16 LUSI, LUSI 43, and LUSI 6 has been identified by previous research in a row belongs to the genus *Corynebacterium* sp, *Vibrio* sp, *Erwinia* sp and *Corynebacterium* sp.

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Blitar, 06 Juli 1994 dari pasangan bapak Machfud dan Ibu Ratnawati. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Slorok II, Kecamatan Garum pada tahun 2000 sampai 2006, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMPN 1 Garum pada tahun 2009, dan pendidikan sekolah menengah atas di SMAN 1 Sutojayan pada tahun 2012. Pada tahun 2012 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1 Program Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur melalui SNMPTN tulis.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah MHPT pada tahun 2015 dan asisten praktikum mata kuliah Ilmu Penyakit Tumbuhan pada tahun 2016. Penulis aktif dalam organisasi fakultas yaitu Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman sebagai Ketua departemen INFOKOM pada tahun 2015. Penulis aktif sebagai panitia tingkat fakultas meliputi acara ARTHROPODA 2014 sebagai divisi konsumsi, ARTHROPODA 2015 sebagai ketua stering comitte, PROTEKSI 2015 sebagai ketua divisi pendamping. Selain itu, penulis juga pernah melaksanakan magang kerja di PT BASF Indonesia pada tahun 2015.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT atas limpahan rahmat, taufik serta hidayah-Nya. Sholawat serta salam tetap tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW. Seiring dengan usaha dan doa pada akhirnya penulis dapat menyelesaikan penelitian ini yang berjudul '**Pemanfaatan Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo untuk Menekan *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai**'.

Dalam pembuatan penelitian ini tidak terlepas dari dukungan dan bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis pada kesempatan ini mengucapkan terima kasih kepada :

1. Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D. selaku dosen pembimbing utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. dan Muhammad Akhid Syibl'i, SP., MP Selaku dosen pembimbing pendamping, yang selalu memberi pengarahan, kritik, saran serta motivasi yang sangat membangun kepada penulis.
2. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS selaku ketua jurusan atas nasehat dan bimbingan kepada penulis serta dosen dan seluruh karyawan Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya atas segala arahan dan bimbingannya kepada penulis.
3. Kedua orang tua tercinta atas doa, cinta, motivasi, kasih sayang, dukungan, dan pengertian yang diberikan kepada penulis.
4. Teman-teman Sublab Bakteriologi, BASF Internship, HIMAPTA dan sahabat tercinta (Hesa, Tiara, Nia, Dewinda, Donny, dan Kuni) atas doa dan semangatnya.

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

Malang, Juni 2016

Hormat Penulis

DAFTAR ISI

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
RIWAYAT HIDUP	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR TABEL.....	vii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Hipotesis.....	3
1.5 Manfaat.....	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Tanaman Kedelai.....	5
2.2 Ekologi Tanaman Kedelai.....	5
2.3 Penyakit Rebah Semai.....	6
2.4 Deskripsi <i>Sclerotium rolfsii</i>	7
2.5 Bakteri Antagonis.....	8
2.6 Pemanfaatan Bakteri dari Lingkungan Ekstrem.....	9
2.7 Lumpur Sidoarjo	11
III. METODE PENELITIAN	13
3.1 Tempat dan Waktu	13
3.2 Alat dan Bahan	13
3.3 Metode Penelitian.....	13
3.4 Pelaksanaan Penelitian	15
3.5 Variabel Pengamatan.....	21
3.6 Analisis Data	22
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Seleksi Isolat Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis Terhadap <i>S. rolfsii</i> secara <i>In Vitro</i>	23
4.2 Penghambatan Pertumbuhan Jamur <i>S. rolfsii</i> dengan Bakteri Antagonis secara <i>In Vitro</i>	24
4.3 Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Lumpur Sidoarjo.....	26
4.4 Pengaruh Aplikasi Bakteri Antagonis terhadap Persentase Kejadian Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai secara <i>In Vivo</i>	31
V. KESIMPULAN DAN SARAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	40

DAFTAR GAMBAR

No	Teks	Halaman
1.	Gejala penyakit Rebah Semai pada tanaman kedelai.....	6
2.	Morfologi makroskopis <i>S. rolfsii</i>	7
3.	Metode oposisi langsung.....	18
4.	Penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>S.rolfsii</i>	25
5.	Koloni LUSI 93.....	27
6.	Hasil pengujian Gram	28
7.	Hasil uji oksidase	29
8.	Hasil uji fermentasi glukosa.....	29
9.	Hasil pertumbuhan bakteri LUSI 93 pada media NA ⁺ bereaksi positif	30
10.	Hasil uji hipersensitif	30
11.	Gejala Kejadian Penyakit Rebah Semai.....	32

No	Lampiran	Halaman
1.	Pengujian Gram isolat LUSI 93	41
2.	Uji oksidase isolat LUSI 93	41
3.	Uji fermentasi isolat LUSI 93	41
4.	Pertumbuhan isolat LUSI 93 di media NA ⁺	42
5.	Uji hipersensitif isolat LUSI 93	42
6.	Dokumentasi uji antagonis jamur <i>S.rolfsii</i> dengan bakteri antagonis.....	45
7.	Denah percobaan uji penekanan bakteri antagonis terhadap <i>S.rolfsii In Vivo</i>	45
8.	Dokumentasi uji penekanan penyakit rebah semai secara <i>in vivo</i>	46

DAFTAR TABEL

No	Teks	Halaman
1.	Perlakuan uji penghambatan jamur patogen <i>S. rolfsii</i> secara <i>in vitro</i>	14
2.	Perlakuan uji penekanan jamur patogen <i>Sclerotium rolfsii</i> secara <i>in vivo</i>	15
3.	Pengaruh jenis isolat bakteri lumpur Sidoarjo terhadap pertumbuhan <i>S. rolfsii</i>	23
4.	Rerata Presentase Penghambatan Bakteri Antagonis secara <i>In Vitro</i>	24
5.	Morfologi Isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo.....	26
6.	Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri antagonis lumpur Sidoarjo.....	27
7.	Rerata Presentase Kejadian Penyakit Rebah Semai.....	31
8.	Rerata persentase efektifitas bakteri antagonis	34

No	Lampiran	Halaman
1.	Tabel anova persentase daya hambat pertumbuhan <i>S.rolfsii</i> umur 72 JST..	47
2.	Tabel anova persentase daya hambat pertumbuhan <i>S.rolfsii</i> umur 96 JST..	47
3.	Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 7 HSI	47
4.	Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 14 HSI	47
5.	Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 21 HSI	47
6.	Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 28 HSI	48
7.	Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 35 HSI	48

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tanaman kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill) merupakan komoditas strategis di Indonesia karena kedelai merupakan tanaman pangan penting setelah beras dan jagung. Hal ini dapat dilihat dari banyaknya pangan di Indonesia yang berbahan baku dari kedelai. Kedelai mengandung protein 35 % bahkan pada varietas unggul kadar proteinnya dapat mencapai 40 - 43 %. Kedelai mempunyai kandungan protein yang tinggi, hampir menyamai kadar protein susu skim kering (Margono *et al.*, 2000). Menurut Badan Pusat Statistik (2015) menyebutkan produksi kedelai provinsi Jawa Timur pada tahun 2015 mengalami penurunan 350.066 ton dibandingkan pada tahun 2014 sebesar 355.464 ton.

Peningkatan produktivitas kedelai tidak jarang mengalami berberapa kendala, antara lain adalah adanya organisme pengganggu tanaman. Salah satu organisme pengganggu tanaman yang menyerang tanaman kedelai adalah penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *Sclerotium rolfsii*. Penyakit ini merupakan masalah penting di Indonesia karena menyerang beberapa jenis tanaman kacang-kacangan khususnya kedelai dengan kerusakan mencapai 100 % (Djauhari, 2003). *Sclerotium rolfsii* merupakan patogen yang sulit dikendalikan karena mampu bertahan selama bertahun-tahun di dalam tanah dalam bentuk sklerotia dan mempunyai kisaran inang yang luas (Semangun, 1993).

Salah satu pengendalian yang telah dilakukan untuk menekan serangan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* yaitu penggunaan fungisida kimia. Namun, pengendalian dengan fungisida kimia lebih baik dilakukan sebagai pengendalian alternatif yang terakhir. Hal tersebut dikarenakan penggunaan pestisida kimia secara terus menerus memiliki dampak negatif yaitu dapat mengakibatkan pencemaran lingkungan, resistensi patogen tanaman, dan berdampak buruk terhadap kesehatan manusia (Sennoi *et al.*, 2013). Oleh karena itu, strategi pengendalian yang efektif dan ramah lingkungan perlu dikembangkan dalam dunia pertanian. Pengendalian hayati dengan penggunaan mikroorganisme antagonis perlu dikembangkan. Aplikasi mikroorganisme antagonis lebih aman bagi

lingkungan, relatif kompatibel dalam pengendaliannya dan tidak menimbulkan residi kimia di dalam agroekosistem (Baker dan Cook, 1983).

Salah satu mikroorganisme antagonis yang telah dilaporkan mampu mengendalikan penyakit tanaman kedelai yaitu *Pseudomonas fluorescens* dan *Trichoderma* sp. Mikroorganisme tersebut mampu menghasilkan senyawa antifungal, antibiotik, dan metabolit sekunder yang sifatnya dapat menghambat aktivitas patogen jamur (Stein, 2005 ; Haas dan Devago, 2005). Namun, penggunaan mikroorganisme antagonis dilapangan tidak jarang mengalami beberapa kendala yaitu tidak mampu tumbuh dengan baik pada kondisi lingkungan yang ekstrem seperti suhu tinggi dan salinitas tinggi. Oleh karena itu dibutuhkan mikroorganisme antagonis yang mampu beradaptasi dan bertahan hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrem. Mikroorganisme yang mampu hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrem dilaporkan memiliki kelebihan yaitu dapat menyesuaikan diri dalam berbagai kondisi lingkungan. Salah satu cara untuk mendapatkan mikroba antagonis tersebut yaitu dengan eksplorasi mikroba antagonis dari lingkungan yang ekstrem. Sebagai contoh, *Vibrio* sp ditemukan mampu hidup dalam kondisi salinitas tinggi. *Vibrio* sp tersebut dilaporkan mampu bersifat antagonis terhadap jamur patogen pada tanaman bakau (Kannahi dan Dhivya, 2015).

Salah satu kawasan yang memiliki kondisi lingkungan yang ekstrem adalah lumpur Sidoarjo. Lumpur Sidoarjo adalah peristiwa semburan lumpur panas di lokasi pengeboran PT Lapindo Brantas di Desa Renokenongo, Porong, Kabupaten Sidoarjo, Jawa Timur, sejak 27 Mei 2006. Lumpur Sidoarjo terdiri dari air 70% dan 30% padatan. Kadar salinitas Lumpur Sidoarjo sangat tinggi yaitu 38-40 % (Juniawan, 2012). Sedangkan, suhu rata-rata lumpur Sidoarjo berkisar 45-70°C dengan kondisi pH alkali. Karakteristik tersebut menyebabkan lumpur Sidoarjo dapat dimanfaatkan sebagai sumber mikroorganisme yang bersifat termofilik (Habibie, 2014).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Aini *et al.*, (2014) telah berhasil didapatkan bakteri yang mampu berasosiasi oleh tanaman yaitu 117 isolat bakteri

yang toleran terhadap salinitas tinggi dan 42 isolat bakteri yang toleran terhadap suhu tinggi. Pada penelitian ini isolat tersebut diuji sifatnya sebagai antagonis untuk mengendalikan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *Sclerotium rolfsii*.

1.2 Perumusan masalah

1. Apakah ada jenis bakteri dari lumpur Sidoarjo yang mampu menghambat perkembangan jamur *S. rolfsii* ?
2. Bagaimana efektifitas bakteri lumpur Sidoarjo dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*?
3. Bagaimana efektifitas bakteri lumpur Sidoarjo dalam menghambat penyakit rebah semai pada tanaman kedelai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mempelajari jenis bakteri dari lumpur Sidoarjo yang mampu menghambat perkembangan jamur *S. rolfsii*.
2. Mempelajari efektifitas bakteri lumpur Sidoarjo dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*.
3. Mempelajari efektifitas bakteri lumpur Sidoarjo dalam menghambat penyakit rebah semai pada tanaman kedelai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii*.

1.4 Hipotesis

1. Jenis bakteri dari lumpur Sidoarjo mampu menghambat perkembangan jamur *S. rolfsii*.
2. Bakteri lumpur Sidoarjo mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*.
3. Bakteri lumpur Sidoarjo mampu menghambat penyakit rebah semai pada tanaman kedelai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii*.

1.5 Manfaat

Memberikan informasi mengenai pengaruh aplikasi bakteri lumpur Sidoarjo dalam menekan perkembangan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *S. rolfsii* pada tanaman kedelai sehingga dapat digunakan sebagai alternatif pengendalian efektif dan efisien yang ramah lingkungan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai berasal dari Cina yang merupakan produsen kedelai terbesar di dunia dan eksportir selama 20 tahun terakhir. Pada tahun 1950 produksi kedelai berkembang pesat di Amerika Serikat, dan Amerika Serikat sekarang menjadi negara produsen kedelai terbesar di dunia. Dalam produksi kedelai tahun 1970 dikembangkan di Brazil, dan sekarang Brazil menjadi negara penghasil kedelai terbesar kedua. Tanaman kedelai memiliki banyak keuntungan dilihat dari segi pola perakaran tanaman kedelai menyebabkan aerasi yang baik dalam rhizosfer, penambahan biomasa tanaman, memperkaya kandungan bahan organik yang menjadi pembentukan dasar untuk aktivitas biologis didalam tanah (Singh, 2009).

Taksonomi tanaman kedelai diklasifikasikan sebagai berikut divisi Spermatophyta, kelas Dicotyledonae, ordo Fabales, famili Leguminos, genus *Glycine*, spesies *Glycine max*. Taksonomi tanaman kedelai sebelumnya dikenal dengan nama *G. soja* Sieb dan Zucc namun kemudian terjadi kesepakatan bahwa nama kedelai yang dibudidayakan yaitu *G.max* L Merill. Kedelai liar bernama *G. ussuriensis* diberi nama oleh Regel dan Maack, nama ini digunakan sampai tahun 1979 (Singh, 2009).

2.2 Ekologi Tanaman Kedelai

Tanaman kedelai menghendaki daerah dengan curah hujan minimum sekitar 800 mm pada masa pertumbuhan selama 3-4 bulan. Di sentra penanaman kedelai di Indonesia pada umumnya kondisi iklim yang paling cocok adalah daerah-daerah yang mempunyai suhu antara 25^0 - 27^0 C, kelembaban udara rata-rata 65 %, penyinaran matahari 12 jam per hari atau minimal 10 jam perhari dan curah hujan paling optimum antara 100-200 mm/bulan (Jayasumarta, 2012).

Kedelai dapat tumbuh baik pada tanah bertekstur gembur, lembab tidak tergenang air dan memiliki pH 6-6,8. Pada pH 5,5 kedelai masih dapat tumbuh dan berproduksi, meskipun tidak sebaik pada pH 6-6,8. Tanaman kedelai mempunyai

daya adaptasi yang luas terhadap berbagai jenis tanah. Berdasarkan kesesuaian jenis tanah untuk pertanian maka tanaman kedelai cocok ditanam pada jenis tanah alluvial, regosol, grumosol, latosol, dan andosol (Jayasumarta, 2012).

2.3 Penyakit Rebah Semai

Penyakit rebah semai merupakan patogen tular tanah yang disebabkan oleh *Rhizoctonia* dan *Sclerotium* yang mampu hidup pada tanah masam, suhu rendah, dan keadaan lembab. Patogen tular tanah sering menyerang tanaman kedelai, kacang hijau, dan kacang tanah. Serangan patogen tular tanah pada tanaman diawali dengan infeksi pada bagian akar atau batang yang berbatasan dengan permukaan tanah. Infeksi menyebabkan transportasi hara dan air tersumbat sehingga daun menguning dan tanaman layu. Patogen selanjutnya menyebar ke seluruh bagian tanaman dan menyebabkan pembusukan (Sumartini, 2011).

Serangan parah sering terjadi pada musim hujan, yang menyebabkan seluruh tanaman di suatu area menjadi layu dan gagal panen. Gejala berikutnya terdapat jamur berupa lapisan putih atau benang miselium pada jaringan yang terinfeksi dalam tanah. Miselium yang tumbuh kemudian akan mengalami bentuk pertahanan berupa sklerotia. Sklerotia memiliki ukuran seragam menyerupai biji sawi, bulat dan putih ketika muda dan kemudian menjadi coklat gelap sampai hitam (Ferreira dan Boley, 2006). Sklerotia dapat bertahan hidup 3 sampai 4 tahun di dekat permukaan tanah (Faske, 2014).



Gambar 1. Gejala penyakit Rebah Semai pada tanaman kedelai ; (a) tanaman kedelai layu ; (b) kenampakan miselium pada perakaran (Sumartini, 2011).

Pengendalian penyakit tular tanah sebaiknya disesuaikan dengan cara bertahan hidup jamur. Beberapa pengendalian yang dapat dilakukan untuk mengendalikan patogen tular tanah adalah pengendalian biologi dengan memanfaatkan mikroorganisme antagonis, pengendalian secara mekanis, varietas tanah, dan pengendalian secara kimia (Punja, 1985).

2.4 Deskripsi *Sclerotium rolfsii*

Sclerotium rolfsii termasuk dalam phylum Basidiomycota, ordo Aphyllorales, genus *Athelia* (Agrios, 2005). *S. rolfsii* merupakan patogen yang memiliki kisaran inang lebih dari 200 spesies tanaman (Faske, 2014). *S. rolfsii* merupakan penyakit tular tanah yang sebarannya di Indonesia sangat luas, meliputi Jawa, Sumatera, Kalimantan, Bali, Nusa Tenggara Barat, dan Nusa Tenggara Timur. Hasil survei di Sumatera Selatan menunjukkan kacang hijau di beberapa daerah tersebut terinfeksi oleh *S. rolfsii* (Sumartini, 2011). *S. rolfsii* merupakan patogen tular tanah yang menyerang bagian tanaman terutama batang, selain itu *S. rolfsii* juga menginfeksi setiap bagian dari tanaman di bawah kondisi lingkungan yang menguntungkan termasuk akar, buah-buahan, tangkai, daun, dan bunga.



Gambar 2. Morfologi makroskopis *S. rolfsii* ; (a) hifa jamur berwarna putih ; (b) sklerotia (Sumartini, 2011).

S. rolfsii mampu bertahan dan berkembang dalam berbagai kondisi lingkungan. Pertumbuhan terjadi dalam kisaran pH yang luas, meskipun kondisi terbaik pada tanah asam. Kisaran pH optimum untuk pertumbuhan miselium adalah 3,0 - 5,0 dan sklerotia perkembangan terjadi antara 2,0 dan 5,0. Perkembangan

terhambat pada pH di atas 7,0. Pertumbuhan miselium maksimum terjadi antara 25°C dan 35°C. Miselium tidak dapat tumbuh pada suhu 0 °C, namun sklerotia dapat bertahan hidup pada suhu rendah yaitu -10°C. Kelembaban tinggi diperlukan untuk pertumbuhan jamur yang optimal. Sklerotia gagal berkecambah ketika kelembaban relatif jauh di bawah saturasi. Namun, ada beberapa penelitian yang menyatakan bahwa sklerotia mampu berkecambah dengan baik pada kelembaban relatif 25-35% (Kator, 2015).

Pada umumnya sklerotia terbentuk pada musim hujan dan menjadi inokulum pertama oleh penyakit. Sklerotia tumbuh pada permukaan tanah, sklerotia ada bebas didalam tanah dan berasosiasi dengan sisa tanaman. Sklerotia yang terkubur dalam tanah hidup kurang lebih selama setahun, ketika berada dipermukaan tanah kembali aktif dan mungkin berkecambah pada respon alkohol dan bahan-bahan yang lain mudah menguap yang berasal dari dekomposisi bahan tanaman (Kator, 2015). Pada musim hujan miselium berada pada jaringan yang terinfeksi atau sisa tanaman dengan muncul berupa sklerotia. Sklerotia tersebar oleh kultur teknik (tanah terinfeksi dan alat yang terkontaminasi), infeksi terjadi pada saat transplanting, air (khususnya irigasi), angina, dan mungkin oleh biji. Selanjutnya, persentase kecil dari sklerotia mungkin terbawa domba dan ternak lain (Ferreira dan Boley, 2006).

2.5 Bakteri Antagonis

Penyakit tanaman harus dikendalikan untuk menjaga kualitas dan kelimpahan makanan, pakan, dan serat yang dihasilkan oleh petani di seluruh dunia. Salah satu alternatif pengendalian yang ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia yaitu dengan pengendalian secara biologis (Pal *et al.*, 2006). Salah satu pengendalian secara biologis yaitu dengan menggunakan mikroba antagonis. Mikroba antagonis selama ini yang banyak digunakan adalah *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluroescens*. Pengendalian penyakit menggunakan *Bacillus* dan *Pseudomonas* melibatkan proses mekanisme langsung maupun tidak langsung yang mencakup sintesis dari beberapa metabolit (Auksin, Sitokin, dan giberelin),

induksi 1 – amino siklopropana-1-karboksilat (ACC) deaminase, produksi siderophore, antibiotik, danhydrogen sianida (HCN) (Abbasdokht dan Gholam, 2010). Selain itu, bakteri dari kelompok *Bacillus* dan *Pseudomonas* telah terbukti menjadi pelarut fosfat yang paling kuat (Grossart *et al.*, 2004).

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

Kompetisi. Mikroorganisme bertahan hidup di habitat alami mereka dengan cara bersaing ruang, mineral dan nutrisi untuk berkembang biak. Mekanisme kompetisi telah memainkan peran penting dalam biokontrol spesies *Fusarium* dan *Pythium* oleh beberapa strain *Pseudomonas*.

Antibiosis. Antibiosis merupakan proses antagonis mengeluarkan senyawa metabolit, agen litik, enzim, senyawa racun, dan antibiotik dalam mengendalikan patogen.

Parasitisme. Parasitisme terjadi ketika antagonis menyerang patogen dengan mengeluarkan enzim seperti kitinase, selulosa, dan enzim litik lainnya.

2.6 Pemanfaatan Bakteri dari Lingkungan Ekstrem

Mikroorganisme memiliki karakteristik yang berbeda-beda, salah satunya mempunyai kemampuan untuk hidup pada kondisi lingkungan yang ekstrem. Bakteri termotoleran dan halotoleran merupakan bakteri yang mampu tumbuh pada kondisi lingkungan yang ekstrem. Pemanfaatan bakteri termotoleran dan halotoleran semakin mendapat perhatian dalam berbagai bidang, beberapa contohnya sebagai berikut :

a. Bakteri Termotoleran

Bakteri termotoleran merupakan mikroba yang mempunyai potensi memproduksi enzim protease yang stabil terhadap panas dan dari sifat ini sangat diperlukan dalam industri pangan dan non pangan serta aplikasi bioteknologi karena mengurangi kemungkinan kontaminan dan ekonomis. Adanya mikroorganisme yang unggul merupakan salah satu faktor penting dalam usaha produksi enzim (Wahyuna *et al.*, 2012). Mikroorganisme ini sendiri tidak hanya

bersifat toleran terhadap suhu lingkungannya yang bersifat ekstrem tetapi juga mampu untuk bertahan hidup dan berkembangbiak pada kondisi suhu yang ekstrem tersebut (Brock, 1986 dalam Wahyuna *et al.*, 2012).

Mikroorganisme termofilik juga berpontensi sebagai agen antagonis dalam mengendalikan patogen tanaman. *Brevibacillus laterosporus* strain BPM3 telah dilaporkan oleh Saikia *et al* (2011) berpontensi sebagai agen biokontrol dalam mengendalikan jamur patogen *M. grisea*, *R. oryzae*, *F. oxysporum* f. sp. *cicero* dan bakteri gram positif. *Brevibacillus laterosporus* dalam menekan patogen yaitu dengan mengeluarkan senyawa antimikroba dan antibiotik (Ren *et al.*, 2007).

Selain itu, mikroorganisme termofilik mampu mendegradasi komponen penyusun tanaman dan dapat tumbuh pada kondisi alkali. Salah satu komponennya adalah xilan. Xilan merupakan polimer dari xilosa yang banyak ditemukan di dalam hemiselulosa. Hemiselulosa, lignin, dan selulosa merupakan komponen yang membentuk struktur kayu. Oleh karena itu, dimungkinkan terdapat beberapa mikroorganisme yang mampu menghasilkan enzim xilanase yang tumbuh di lingkungan dengan suhu tinggi. Enzim yang dihasilkan oleh mikroorganisme termofilik dapat aktif pada temperatur tinggi, sehingga berpotensi untuk dimanfaatkan pada industri yang menggunakan proses pada temperatur yang tinggi (Agustini, 2010 dalam Habibie *et al.*, 2013). Xilanase merupakan salah satu jenis enzim yang banyak dimanfaatkan pada industri. Umumnya enzim ini digunakan sebagai biokonversi lignoselulosa menjadi gula, etanol, penjernih jus, pakan ternak dan pemutihan kertas (Viikari *et al.*, 1994).

b. Bakteri Halotoleran

Bakteri halotoleran merupakan bakteri yang mampu bertahan hidup pada kondisi lingkungan dengan tingkat kadar garam yang tinggi secara struktural maupun fisiologi (Roohi, 2014). Bertahan hidup pada kondisi lingkungan dengan kadar garam tinggi, bakteri mengembangkan mekanisme seperti modifikasi lapisan permukaan terutama dalam komposisi fosfolipid seluler (Ventosa *et al.*, 2008). Mikroorganisme dari lingkungan garam telah menghasilkan penemuan beberapa spesies baru dari genera bakteri dan domain archaea (Woese dan Fox, 1977).

Penelitian mengenai bakteri halotoleran semakin mendapat perhatian, karena memiliki peranan penting dalam dunia industri maupun pertanian. Dalam bidang industri bakteri halotoleran biasanya digunakan untuk produksi kecap asin, air cuka, dan minyak. Sedangkan dalam bidang pertanian, bakteri halotoleran telah terbukti memiliki pengaruh dalam pemeliharaan kesuburan tanah dan daur ulang nutrisi. Selain itu, bakteri halotoleran memiliki peran besar dalam ilmu pengetahuan dan teknologi saat ini dengan mengembangkan tanaman yang toleran terhadap garam dengan menghasilkan enzim, protein dan antibiotik. Mikroba laut merupakan sumber potensial untuk senyawa bioaktif penting secara komersial. Bakteri halotoleran juga memainkan peran penting dalam dekomposisi bahan organik dan daur hara (Solomon dan Viswalingam, 2013).

Dewasa ini telah dilakukan penelitian mengenai bakteri halotoleran yang bermanfaat bagi dunia pertanian. Bakteri *Vibrio* sp merupakan salah satu bakteri halotoleran yang telah terbukti antagonis terhadap jamur patogen pada tanaman bakau. *Vibrio* sp mampu melarutkan fosfat, dan mampu menghasilkan senyawa antifungal dan enzim untuk menekan pertumbuhan jamur patogen. Penelitian yang sudah dilakukan menunjukkan bahwa *Vibrio* sp mampu melarutkan fosfat secara maksimum dibandingkan *Bacillus subtilis* and *Clostridium* sp (Kannahi dan Dhivya, 2015).

2.7 Lumpur Sidoarjo

Lumpur panas yang dihasilkan mengandung karbon organik sebesar 54.7 - 55.47%, Pb sebesar 0.27 - 0.34 mg/L, dan Cu sebesar 0.83 - 1.31 mg/L, KTK dari 3.89- 35.42 Me / 100g, Kadar air adalah 40,41 - 60,73%, dan memiliki suhu antara 45 - 700 C dengan kondisi pH alkali. Karakteristik ini menunjukkan bahwa Lumpur Sidoarjo berpotensi sebagai sumber mikroorganisme yang bersifat termofilik maupun hipertermofilik (Habibie, 2014 ; Juniawan *et al.*, 2012).

Hasil penelitian Rahayu (2008) menyatakan bahwa Lumpur Sidoarjo mengandung unsur hara seperti N, P, K, Na, Ca, Mg, C organik dan mempunyai nilai kapasitas pertukaran kation yang tinggi. Potensi tersebut menjadikan bahan

pertimbangan untuk mengeksplorasi tanah endapan lumpur sebagai media pembibitan dan akan direkayasa dengan memberikan sentuhan teknologi. Bakteri dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* yaitu *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. telah berhasil diisolasi dari lumpur Sidoarjo yang mempunyai kemampuan dalam melarutkan fosfat, menghasilkan auksin dan menghasilkan zat antipatogen (Soekarno *et al.*, 2013).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang dan Rumah Kaca Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang mulai bulan Januari - Mei 2016.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *trashbag*, *tray* pembibitan, *sprayer*, timbangan, cetok, cawan Petri, autoclave, LAFC, mikrowave, cork borer, Bunsen, jarum ose, botol media, gelas ukur, gelas objek, gelas penutup mikroskop, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas burangrang, biakan murni bakteri lumpur Sidoarjo koleksi Jurusan Hama dan Penyakit, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, dan Isolat *S. rolfsii* koleksi Jurusan Hama dan Penyakit, Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Nutrient Agar* (NA), alkohol 75 %, aquades steril, spiritus, kertas saring, fungisida kimia bahan aktif piraklostrobin, tanah steril dan pupuk kompos.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan dengan rincian sebagai berikut :

3.3.1 Seleksi Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfsii*

Seleksi bakteri antagonis dilakukan untuk mengetahui bakteri yang mampu bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii*. Sebanyak 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo diuji daya antagonisnya dengan jamur *S. rolfsii* menggunakan metode oposisi langsung pada media NA.

3.3.2 Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfsii* dengan Bakteri Antagonis Secara *In Vitro*

Penelitian secara *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 7 perlakuan (kontrol, fungisida dan 5 isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo) yang masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Perlakuan bakteri lumpur Sidoarjo menggunakan kerapatan 10^9 cfu/ml. Rancangan perlakuan uji penghambatan jamur patogen *S. rolfsii* dapat dilihat pada (Tabel 1).

Table 1 Perlakuan uji penghambatan jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vitro*.

Perlakuan	Keterangan
P0	Kontrol
P1	Fungisida
P2	Bakteri LUSI 93
P3	Bakteri LUSI 54
P4	Bakteri LUSI 43
P5	Bakteri LUSI 16
P6	Bakteri LUSI 6

3.3.3 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo

Identifikasi dan karakterisasi bakteri antagonis lumpur Sidoarjo dilakukan berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) dan Schaad (2001). Bakteri antagonis yang diidentifikasi berdasarkan hasil seleksi yang bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii*.

3.3.4 Uji Penekanan Penyakit Rebah Semai dengan Bakteri Antagonis Secara *In Vivo*

Penelitian secara *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang terdiri dari 7 perlakuan (kontrol, fungisida dan 5 isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo) yang masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Perlakuan bakteri lumpur Sidoarjo menggunakan kerapatan 10^9 cfu/ml dan fungisida dengan dosis 0,25 ml/l. Penelitian dilakukan dirumah kaca dengan jumlah tanaman sebanyak 50 per ulangan dengan semua perlakuan diinokulasikan jamur *S. rolfsii*. Perlakuan uji penekanan penyakit Rebah Semai secara *in vivo* dapat dilihat pada (Table 2).

Table 2 Perlakuan uji penekanan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* secara *in vivo*

Perlakuan	Keterangan
P0	Kontrol
P1	Fungisida
P2	Bakteri LUSI 93
P3	Bakteri LUSI 54
P4	Bakteri LUSI 43
P5	Bakteri LUSI 16
P6	Bakteri LUSI 6

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Seleksi Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfsii*

Sebanyak 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo diseleksi untuk mengetahui bakteri yang bersifat antagonis terhadap pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii*. Metode pelaksanaan yang dilakukan sebagai berikut :

1. Pembiakan *S. rolfsii*

Biakan isolat jamur *S. rolfsii* yang digunakan merupakan koleksi Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Isolat jamur kemudian dipurifikasi pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan diinkubasi selama 1 minggu untuk mendapatkan biakan murni.

2. Pembiakan Bakteri Lumpur Sidoarjo

Biakan isolat bakteri lumpur Sidoarjo merupakan koleksi Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Sebanyak 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo diremajakan kembali pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1×24 jam untuk mendapatkan bakteri murni. Koloni biakan yang tumbuh diremajakan kembali pada media NA + NaCl 3 % menggunakan jarum ose kemudian digores dengan metode *streak* tunggal untuk mendapatkan koloni tunggal dan diinkubasi selama 1×24 jam.

3. Seleksi Penghambatan Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfssii*

Uji antagonis bakteri lumpur Sidoarjo terhadap jamur patogen *S. rolfssii* dilakukan dengan menggunakan metode oposisi langsung. Pengujian antagonis bakteri lumpur Sidoarjo dilakukan dengan cara mencelupkan kertas saring yang berdiameter 0,5 cm pada suspensi isolat bakteri selama satu menit dan ditiriskan pada tisu steril selama 1 jam.

Pengujian antagonis bakteri lumpur Sidoarjo dilakukan dengan menanam kertas saring yang sudah ditiriskan dan jamur patogen *S. rolfssii* secara berhadapan dengan jarak 3 cm pada media NA. Penanaman bakteri lumpur Sidoarjo dan jamur patogen *S. rolfssii* dilakukan secara bersamaan. Biakan uji antagonis kemudian diinkubasi pada suhu kamar (28^0 - 30^0 C) sampai jamur *S. rolfssii* tumbuh menyentuh tepi cawan Petri.

3.4.2 Uji Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfssii* dengan Bakteri Antagonis Secara *In Vitro*

1. Pembiakan dan Pemeliharaan *S. rolfssii*

Biakan isolat *S. rolfssii* yang digunakan adalah koleksi Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Biakan isolat *S. rolfssii* dipurifikasi pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan diinkubasi selama 1 minggu untuk mendapatkan biakan murni.

2. Pembiakan dan Pemeliharaan Bakteri Lumpur Sidoarjo

Biakan bakteri lumpur Sidoarjo yang digunakan adalah koleksi Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Sebanyak 5 isolat tunggal bakteri lumpur Sidoarjo diremajakan pada media NA (*Nutrient Agar*) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 1×24 jam untuk mendapatkan bakteri murni.

3. Perlakuan Penghambatan Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *S. rolfssii* secara *In Vitro*

Pengujian bakteri antagonis secara *in vitro* dilakukan pada cawan Petri berdiameter 9 cm dengan menggunakan metode oposisi langsung. Metode tersebut dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri antagonis dan isolat jamur *S. rolfssii* secara berhadapan dengan jarak 3 cm. Pengujian bakteri antagonis lumpur Sidoarjo dilakukan dengan cara mencelupkan kertas saring yang berdiameter 0,5 cm pada suspensi isolat bakteri selama satu menit dan ditiriskan pada tisu steril selama 1 jam.

Kertas saring yang sudah ditiriskan kemudian ditanam pada media NA dan diuji daya antagonisnya dengan meletakkan jamur *S. rolfssii* yang telah diambil dari biakan murni dengan menggunakan cork borer berdiameter 0,5 cm secara berhadapan. Inokulasi bakteri antagonis pada media NA dilakukan secara bersamaan dengan inokulasi *S. rolfssii*. Biakan uji antagonis diinkubasikan pada suhu kamar (28^0 - 30^0 C) sampai *S. rolfssii* tumbuh menyentuh tepi cawan Petri.

Perlakuan penghambatan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo terhadap pertumbuhan jamur patogen *S. rolfssii* menggunakan Rancangan Acak Lengkap Sederhana dengan 4 kali ulangan. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk disekitar koloni. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung selisih jari-jari pertumbuhan jamur patogen *S. rolfssii* antara perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan menggunakan isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo. Perhitungan persentase penghambatan diukur dengan rumus adopsi dari (Rhoklani *et al.*,2005) sebagai berikut.

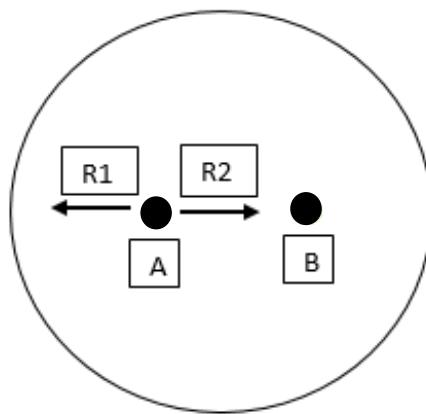
$$I = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100 \%$$

Keterangan :

I adalah persentase daya hambat

R1 adalah jari-jari koloni jamur patogen *S. rolfssii* yang menjauhi antagonis.

R2 adalah jari-jari koloni jamur patogen *S. rolfssii* yang mendekati antagonis.



Gambar 3. Metode oposisi langsung. (R1) jari-jari koloni yang menjauhi antagonis; (R2) jari-jari koloni yang mendekati antagonis; (A) koloni patogen ; (B) koloni antagonis.

3.4.3 Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo

Identifikasi dan karakterisasi bakteri antagonis Lumpur Sidoarjo dilakukan berdasarkan menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) dan Schaad (2001). Bakteri antagonis yang diidentifikasi berdasarkan hasil seleksi yang bersifat antagonis.

1. Reaksi Gram

Pengujian reaksi dengan KOH. Biakan murni bakteri antagonis yang berumur 24 jam disuspensikan diatas gelas objek yang sebelumnya telah ditetesi dengan KOH 3 %. Kemudian diaduk menggunakan jarum ose. Jarum ose diangkat dengan cepat berkali-kali dari permukaan suspensi, suspensi bakteri yang terangkat seperti benang bersama jarum ose dan membentuk lendir maka bakteri termasuk Gram negatif. Apabila suspensi tetap encer atau tidak terangkat dengan jarum ose, menunjukkan bakteri Gram positif.

Pengujian Gram. Biakan murni bakteri antagonis yang berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan diatas pemanas Bunsen. Kemudian dilakukan pengecatan dengan kristal violet (5%) sebanyak 2-3 tetes selama satu menit. Lalu dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Setelah itu ditetesi dengan idodin 1-2 tetes dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah itu dicuci dan dikeringanginkan . Selanjutnya

cuci dengan alkohol 70 % dibiarkan hingga 20 detik kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringanginkan. Proses terakhir ditetesi safranin (0,1%) dibiarkan selama 20 detik dan dicuci dengan air mengalir, dikeringanginkan dan diamati dibawah mikroskop. Sel bakteri Gram negatif berwarna bewarna merah sedangkan sel bakteri Gram positif bewarna ungu.

Pewarnaan Spora. Bakteri yang berumur 24 jam dibuat suspensi dengan aquades steril diatas gelas objek yang telah disterilkan dan dikeringkan diatas lampu Bunsen fiksasi bakteri yang akan diamati, kemudian genangi olesan bakteri dengan *malachite green* yang diletakkan diatas pemanas selama 2-3 menit dan jaga agar pewarna tidak menguap dan mendidih, setelah itu dinginkan kemudian cuci dengan aquades dan dikeringanginkan, setelah itu ditetesi safranin selama 30 detik, kemudian dicuci dengan aquades dan dikeringkan. Proses terakhir diamati dibawah mikroskop sampai perbesaran $1000\times$ menggunakan minyak emersi. Pengamatan spora berupa sel bakteri akan bewarna merah, jika sel membentuk spora maka spora akan bewarna hijau.

2. Uji Hipersensitif

Metode untuk uji hipersensitif mengacu pada Schaad *et al.*, (2001), uji hipersensitif merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui sifat patogenik suatu bakteri. Bakteri dipanen dengan aquades steril kemudian suspensi bakteri diinokulasikan pada bagian tulang daun tembakau sebanyak 1 ml. Reaksi hipersensitif akan menunjukkan gejala nekrosis pada bagian daun. Perkembangan gejala yang ditimbulkan diamati sampai 7 hari.

3. Uji Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk membedakan karakteristik dari genus *Pseudomonas*. Pengujian menggunakan kertas Whatman dan ditetes 3-4 tetes 1 % larutan tertamethyl paraphenyliene diamine dihydrochloride. Selanjutnya 1 ose bakteri berumur 24 jam diambil kemudian diletakkan pada kertas Whatman yang telah ditetes. Perubahan warna setelah 10 detik menunjukkan reaksi positif (Pratita dan Putra, 2012).

4. Uji Fermentasi Glukosa

Media basal terdiri atas: Pepton 2 gr; NaCl 5 gr, KH₂PO₄ 0,3 g r, Agar 3 gr, bromothymolblue (1%) 3 ml. Bahan-bahan tersebut dilarutkan dalam aquades dan diukur pH 7,1. Media disterilkan pada 121°C selama 25 menit. Setelah disterilisasi, setiap tabung ditambahkan dengan 0,5 ml larutan glukosa 10% secara aseptis. Pengujian dilakukan dengan menggunakan 2 tabung reaksi yang masing-masing diisi dengan 5 ml media selektif. Selanjutnya isolat bakteri endofit berumur 24 jam ditusukkan kedalam media pada kedua tabung tersebut. Salah satu tabung ditutup dengan water agar dan tabung lainnya dibiarkan terbuka (tanpa water agar). Kemudian kedua tabung diinkubasikan selama 7-14 hari. Reaksi fermentatif apabila terjadi perubahan warna media dari biru menjadi kuning pada kedua tabung atau hanya pada tabung yang ditutup dengan water agar. Hal ini menunjukkan hasil positif.

5. Uji Na⁺

Uji Na⁺ dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media NA+NaCl 6%. Reaksi positif ditunjukkan dengan tumbuhan bakteri pada media dan reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak tumbuhan bakteri pada media Na⁺ (Pratita dan Putra, 2012).

3.4.4 Uji Penekanan Penyakit Rebah Semai dengan Bakteri Antagonis Secara *In Vivo*

1. Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan adalah tanah dan pupuk kompos dengan perbandingan 1:1. Campuran tanah dan pupuk kompos terlebih dahulu disterilkan dengan cara menyemprotkan formalin 4 % kedalam tanah secara merata untuk mencegah adanya patogen yang tidak diinginkan menyerang tanaman kedelai yang akan ditanam. Kemudian tanah diinkubasi selama seminggu, setelah masa inkubasi selesai tanah dikeringangkan selama seminggu.

2. Aplikasi Bakteri Antagonis Lumpur Sidoarjo

Metode yang digunakan dalam aplikasi bakteri antagonis lumpur Sidoarjo adalah metode perendaman benih dan penyiraman benih. Biakan murni Bakteri Lumpur Sidoarjo disiapkan dalam suspensi media cair dengan kerapatan 10^9 cfu/ml. Sementara aplikasi fungisida kimia dilakukan sesuai dengan dosis aplikasi pestisida didalam kemasan pestisida yaitu 0,25 ml/l. Perlakuan kontrol dilakukan tanpa perendaman benih kedelai atau benih ditanam secara langsung pada media tanam. Perendaman dilakukan selama 4 jam pada suhu ruang. Sedangkan untuk penyiraman benih mengacu pada penelitian Curtis *et al* (2010) penyiraman dilakukan 24 jam sebelum inokulasi patogen sebanyak 5 ml.

3. Inokulasi *S. rolfsii*

Aplikasi patogen tanaman *S. rolfsii* pada media tanam dilakukan ketika benih kedelai berumur 1 minggu HST. Isolat murni *S. rolfsii* terlebih dahulu diremajakan pada media PDA. Kemudian disamping pangkal bibit kedelai yang telah tumbuh diberi lubang kecil dengan kedalaman \pm 3 cm atau sampai mendekati perakan bibit kedelai. Kemudian miselium *S. rolfsii* diambil secara langsung menggunakan jarum ose dari media PDA yang telah ditumbuhkan, dan diletakkan pada lubang yang disediakan disamping pangkal batang bibit kedelai.

Uji antagonis pada tanaman kedelai dirumah kaca menggunakan Rancangan Acak Kelompok dengan 7 perlakuan dan masing-masing perlakuan diulang 4 kali. Kontrol hanya inokulasi jamur *S. rolfsii* tanpa aplikasi mikroba antagonis.

4. Pemeliharaan

Pemeliharaan tanaman meliputi penyiraman, penyirangan gulma dan pengendalian hama penyakit. Penyiraman dilakukan setiap pagi dan sore hari.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Persentase Kejadian Penyakit

Pengamatan dilakukan mulai dari patogen diinokulasi ketanaman hingga pertama sekali menimbulkan gejala pertama. Rumus persentase kejadian penyakit

menggunakan rumus (Campbell & Madden, 1990 dalam Kasutjianingati *et al.*, 2011), sebagai berikut :

$$KP = \frac{n}{N} \times 100 \%$$

Keterangan :

KP adalah persentase kejadian penyakit

n adalah jumlah tanaman yang terserang jamur *S. rolfsii*

N adalah jumlah tanaman keseluruhan termasuk tanaman yang terserang jamur *S. rolfsii*

3.5.2 Efektifitas Bakteri Antagonis

Efektifitas mikroba antagonis dihitung dengan menggunakan rumus Abbot (Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian, 2012), sebagai berikut :

$$EI = \frac{Ca-Ta}{Ca} \times 100 \%$$

Keterangan :

EI adalah efektifitas bakteri antagonis

Ca adalah jumlah tanaman pada perlakuan kontrol yang terserang penyakit rebah semai

Ta adalah jumlah tanaman pada perlakuan non kontrol yang terserang penyakit rebah semai

3.6 Analisis Data

Data pengamatan akan dianalisis dengan menggunakan analisis ragam (ANOVA) pada taraf kesalahan 5 %. Bila hasil pengujian terdapat perbedaan nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5 %.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Seleksi Isolat Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis Terhadap *S. rolfsii* secara *In Vitro*

Hasil eksplorasi yang sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya diperoleh 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo yang mampu berasosiasi terhadap tanaman. Selanjutnya 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo diuji sifat antagonisnya terhadap jamur patogen *S. rolfsii* pada cawan Petri. Daya antagonis ditandai dengan adanya zona hambat yang dihasilkan diantara jamur *S. rolfsii* dengan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo. Hasil seleksi diperoleh 5 isolat yang mampu menghambat *S. rolfsii* (Tabel 3).

Table 3. Pengaruh jenis isolat bakteri lumpur Sidoarjo terhadap pembentukan zona hambat pada pertumbuhan *S. rolfsii* 48 jam setelah inokulasi.

Kode Isolat	Zona Hambat
LUSI 1	-
LUSI 2	-
LUSI 3	-
LUSI 4	-
LUSI 5	-
LUSI 6	+
LUSI 7	-
LUSI 8	-
LUSI 9	-
LUSI 10	-
LUSI 43	+
LUSI 45	-
LUSI 93	+
LUSI 16	+
LUSI 54	+

Keterangan : Hasil uji seleksi bakteri lumpur Sidoarjo. (+) : reaksi positif, (-) : reaksi negatif, LUSI : Lumpur Sidoarjo.

Hasil seleksi bakteri lumpur Sidoarjo diperoleh 5 isolat bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* pada cawan Petri. Isolat bakteri lumpur Sidoarjo yang mempunyai sifat antagonis terhadap jamur patogen *S. rolfsii* yaitu LUSI 6, LUSI 43, LUSI 93, LUSI 16, dan LUSI 54.

4.2 Penghambatan Pertumbuhan Jamur *S. rolfsii* dengan Bakteri Antagonis secara *In Vitro*

Bakteri antagonis lumpur Sidoarjo yang telah diseleksi selanjutnya diuji daya antagonisnya terhadap jamur *S. rolfsii* dengan menggunakan metode oposisi langsung. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh bakteri antagonis lumpur Sidoarjo yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* dalam cawan Petri dengan pembentukan zona hambat. Hasil analisis ragam (Lampiran 8) menunjukkan bahwa beberapa bakteri antagonis berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii* secara *in vitro*. Persentase penghambatan setiap harinya mengalami peningkatan dengan ditandai adanya zona hambat yang mulai dihasilkan pada 72 jam setelah tanam. Persentase penghambatan tertinggi pada 96 jam setelah tanam dibandingkan dengan 72 jam setelah tanam. Berdasarkan persentase zona hambat yang dihasilkan aplikasi bakteri antagonis berpengaruh nyata terhadap kontrol positif yaitu pada perlakuan P2, P3, P5, dan P6. Sedangkan pada perlakuan bakteri antagonis P4 tidak berpengaruh nyata terhadap kontrol positif (Table 4).

Table 4. Rerata Presentase Penghambatan Bakteri Antagonis terhadap jamur *S. rolfsii* secara *In Vitro*

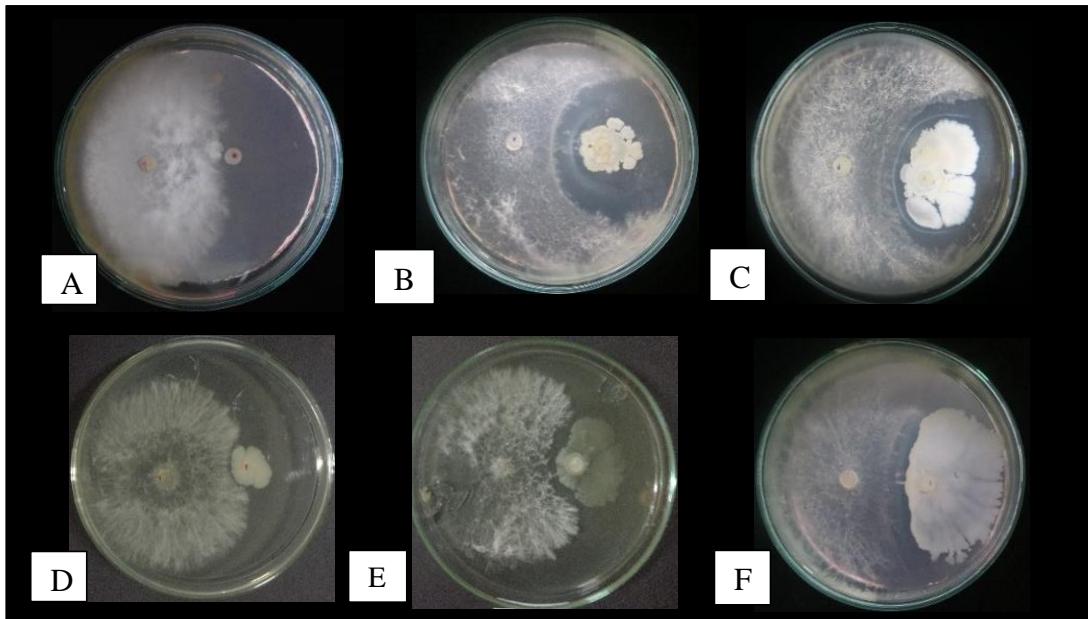
Perlakuan	Rerata persentase zona hambat (%)	
	72 JST	96 JST
P1 (Fungisida)	18.56 a	19.16 a
P2 Isolat LUSI 93	22.5 ab	40.83 b
P3 Isolat LUSI 54	21.94 ab	39.99 b
P4 Isolat LUSI 43	18.05 a	17.50 a
P5 Isolat LUSI 16	27.15 b	40.83 b
P6 Isolat LUSI 6	22.28 ab	39.16 b

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

Keterangan : JST (Jam setelah tanam), LUSI : Lumpur Sidoarjo.

Hasil uji antagonis yang telah dilakukan, isolat bakteri lumpur Sidoarjo mampu menghambat pertumbuhan *S. rolfsii*. Mekanisme antagonis bakteri lumpur Sidoarjo terhadap jamur *S. rolfsii* tergolong antibiosis. Antibiosis adalah proses

penghambatan pertumbuhan suatu mikroorganisme pada lingkungan yang sama (Bentley dan Bennett, 2003). Hal tersebut dapat dilihat adanya pertumbuhan abnormal pada miselium jamur patogen *S. rolfsii* sehingga miselium tidak mampu tumbuh dengan sempurna, ditandai dengan adanya zona kosong pada sekeliling bakteri antagonis (Gambar 4).



Gambar 4. Penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan *S.rolfsii* pada media NA. Keterangan: (A) fungisida, (B) isolat LUSI 93, (C) isolat LUSI 54, (D) isolat LUSI 43, (E) isolat LUSI 16, (F) isolat LUSI 6.

Zona hambat yang dihasilkan pada uji antagonis diduga karena adanya senyawa metabolit yang dikeluarkan oleh bakteri lumpur Sidoarjo, sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan miselium jamur patogen *S. rolfsii*. Menurut Zhang (2004) kemampuan suatu agens hidup dalam menekan patogen biasanya melibatkan satu atau beberapa mekanisme penghambatan, diantaranya dengan menghasilkan antibiotik, toksin, kompetisi ruang dan nutrisi, menghasilkan siderofor, dan HCN. Bakteri seperti *Corynebacterium* sp, *Erwinia* sp, dan *Vibrio* sp telah dilaporkan mempunyai sifat antagonis terhadap patogen tanaman. Menurut Dhinakaran *et al.* (2012) melaporkan bahwa *Corynebacterium* sp bersifat antagonis terhadap patogen tanaman melalui mekanismenya dalam memproduksi siderofor, antibiosis serta kompetisi dalam hal mendapatkan nutrisi dan unsur hara. Selain itu,

beberapa jenis genus *Erwinia* telah dilaporkan dalam berbagai penelitian efektif sebagai agens pengendalian hayati hama dan penyakit tumbuhan (Hassanuddin, 2003). Sedangkan genus *Vibrio* sp menurut Kannahi dan Dhivya (2015) mampu bersifat antagonis terhadap jamur patogen pada tanaman bakau dengan mengeluarkan senyawa antibiotik dan siderofor.

Penghambatan pada beberapa bakteri antagonis berbeda-beda. Adanya perbedaan penghambatan suatu bakteri terjadi karena senyawa antibiotik yang dihasilkan setiap bakteri berbeda (Raharini *et al.*, 2012). Antibiotik merupakan senyawa racun yang dihasilkan oleh suatu mikroba untuk mematikan mikroorganisme lainnya (Pal, 2006). Sedangkan penghambatan pada perlakuan fungisida menunjukkan bahwa piraklostrobin memiliki sifat preventif dan kuratif terhadap sejumlah penyakit tanaman. Proses penghambatan pada patogen jamur hampir terjadi pada tahapan utama dari siklus hidup seperti spora, pertumbuhan miselium, dan sporulasi. Lebih teknis, molekul-molekul ini menghambat pada respirasi mitokondria dalam sel jamur (Uddin, 2001).

4.3 Karakteristik dan Identifikasi Bakteri Lumpur Sidoarjo

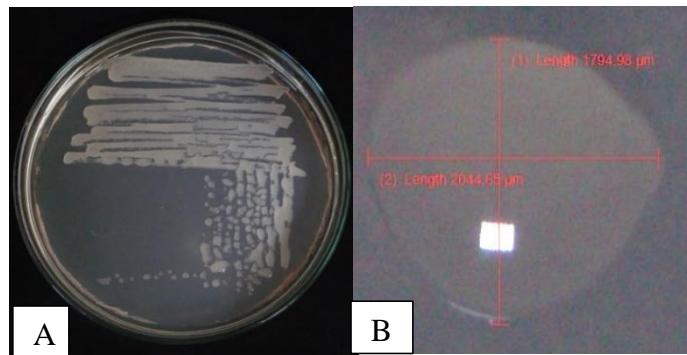
Karakteristik Morfologi

Pembiakan bakteri dilakukan dengan melakukan *streak* tunggal agar didapatkan koloni tunggal yang akan diamati. Terdapat 5 kode yang bersifat antagonis terhadap *S. rolfsii* dengan 4 kode sudah diidentifikasi oleh penelitian sebelumnya yaitu kode LUSI 6, LUSI 54, LUSI 43 oleh Daulika (2016) dan LUSI 16 oleh Daulay (2015). Berikut ini hasil pengamatan morfologi dari isolat bakteri Lumpur Sidoarjo yang belum teridentifikasi (Table 5).

Table 5. Morfologi Isolat Bakteri Lumpur Sidoarjo yang Bersifat Antagonis terhadap *S. rolfsii*

Isolat	Morfologi Koloni			
	Bentuk	Permukaan	Warna	Tepi
LUSI 93	bulat	Cembung	Putih	rata
LUSI 54	bulat	Cembung	putih kekuningan	rata
LUSI 43	bulat	Cembung	putih keruh	rata
LUSI 16	bulat	cembung	putih kekuningan	rata
LUSI 6	bulat	rata	Putih	bergerigi

Hasil pengamatan morfologi dari hasil koloni tunggal bakteri antagonis LUSI 93 yaitu berbentuk bulat, permukaan koloni cembung, mempunyai warna putih dan tepi koloni rata (Gambar 5).



Gambar 5. Koloni LUSI 93. Keterangan : Morfologi bakteri yang digoreskan di media NA. (A) bentuk koloni pada media NA kode LUSI 93 ; (B) Bentuk koloni tunggal kode LUSI 93.

Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Pengujian fisiologi dan biokimia pada (Tabel 6) meliputi uji hipersensitif, pengujian Gram, pengecatan spora, pengujian KOH 3 %, uji oksidase, uji katalase, fermentatif glukosa, pertumbuhan pada media YDC, dan pertumbuhan pada media NA⁺. Isolat bakteri antagonis kode LUSI 6, LUSI 54, LUSI 43 sudah diidentifikasi oleh Daulika (2016) dan LUSI 16 oleh Daulay (2015).

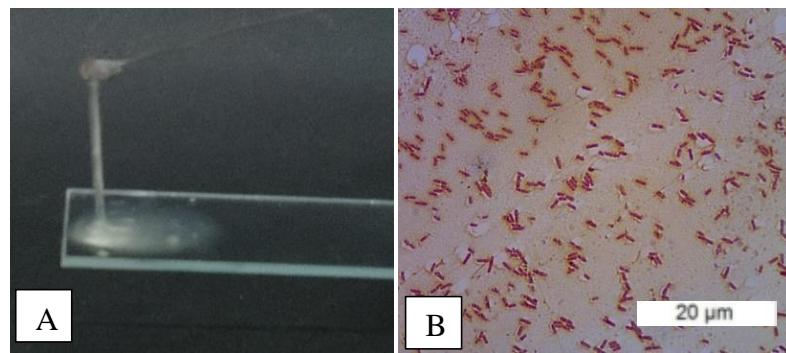
Table 6. Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri antagonis lumpur Sidoarjo

Karakter	LUSI 93	LUSI 54	LUSI 43	LUSI 16	LUSI 6
Uji reaksi Gram					
KOH 3 %	-	-	-	-	+
Pengecatan Gram	-	-	-	-	+
Bentuk sel	basil (batang)	basil (batang)	basil (batang)	basil (batang)	basil (batang)
Uji Fermentasi glukosa	+	+	+	+	TU
Uji oksidase	+	-	-	+	TU
Uji Katalase	TU	TU	TU	TU	+
Hipersensitif	-	-	-	-	-
Pertumbuhan di NA ⁺	+	TU	TU	+	TU
Pertumbuhan di YDC	TU	-	-	TU	-

Keterangan : Karakteristik fisiologi dan biokimia terpilih Lumpur Sidoarjo. (+) : reaksi positif, (-) : reaksi negatif, (TU) : Tidak dilakukan uji. Isolat LUSI 93 termasuk kedalam genus *Vibrio* sp.

1. Uji Gram

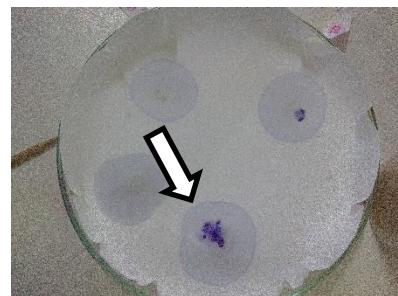
Pengujian gram dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut termasuk gram positif atau negatif. Pengujian dengan menggunakan kalium hidroksida (KOH) 3 % dan Pengecatan Gram. Isolat LUSI 93 menunjukkan terdapatnya lendir ketika diangkat dengan menggunakan jarum ose dan terdapat warna merah dan berbentuk basil (batang) jika diamati dibawah mikroskop. Menurut Schaad *et al.* (2001) teknik pewarnaan untuk uji Gram ditandai dengan bakteri gram positif berwarna ungu sampai kehitaman, sedangkan bakteri gram negatif bewarna merah.



Gambar 6. Hasil pengujian Gram (A) pengujian KOH 3 % pada bakteri terdapat lendir menunjukkan bakteri Gram negatif, (B) pengamatan mikroskop menunjukkan bakteri

2. Uji Oksidase

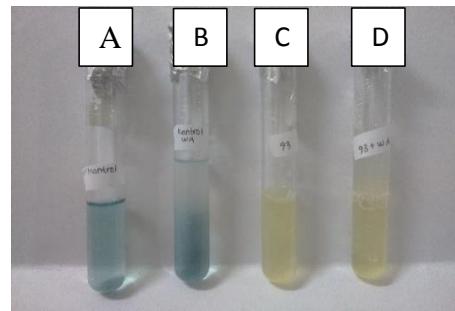
Uji oksidase merupakan uji lanjutan setelah diketahui bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang (basil). Uji oksidase dilakukan dengan meneteskan larutan reagen oksidase, kode LUSI 93 menunjukkan terdapat perubahan warna menjadi ungu setelah ditetesi oleh larutan reagen oksidase sehingga dapat disimpulkan bereaksi positif. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna ungu, sedangkan hasil negatif ditandai dengan munculnya warna merah muda (Pratita dan Putra, 2012).



Gambar 7. Hasil uji oksidase dengan larutan reagen terhadap isolat LUSI 93

3. Uji Fermentasi Glukosa

Fermentasi glukosa dilakukan dengan menggunakan media yang diberi water agar dan tanpa water agar, sehingga didalam media tidak terdapat udara yang dapat mendukung fermentasi (Schaad *et al.*, 2001). Tujuan dari uji fermentasi glukosa adalah untuk mengetahui sifat bakteri pada glukosa. Pada pengujian yang telah dilakukan terdapat reaksi positif yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna menjadi kuning.



Gambar 8. Hasil uji fermentasi glukosa.(A) kontrol tanpa water agar, (B) kontrol water agar, (C) bakteri tanpa water agar, (D) bakteri water agar.

4. Pertumbuhan di media Na^+ Uji Na^+ dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NA dan NaCl 6%. Bakteri LUSI 93 mampu tumbuh pada media NA dan NaCl 6%, hal tersebut menunjukkan bakteri tersebut positif terhadap uji Na^+ . Hasil positif ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri pada media Na^+ , sedangkan hasil negatif ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan bakteri pada media Na^+ (Pratita dan Putra, 2012).



Gambar 9. Hasil pertumbuhan bakteri LUSI 93 pada media NA⁺ bereaksi positif

5. Uji Hipersensitif

Pada pengujian hipersensitif dilakukan dengan cara membuat suspensi bakteri dari biakan yang telah diinkunbasikan selama 24 jam. Suspensi tersebut kemudian disuntikkan pada permukaan bawah daun tembakau. Bakteri Lumpur Sidoarjo bereaksi negatif pada uji Hipersensitif. Hipersensitif merupakan suatu bentuk pertahanan tanaman dalam menanggapi serangan patogen, daun tembakau yang telah diinokulasi tidak menunjukkan gejala nekrotik menunjukkan bakteri non patogenik (Agrios, 2005).



Gambar 10. Hasil uji hipersensitif pada daun tembakau bereaksi negatif

Berdasarkan identifikasi yang telah dilakukan menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) dan Schaad (2001) bakteri LUSI 93 dapat dikelompokkan dalam genus *Vibrio* sp. Bakteri LUSI 43 berdasarkan penelitian sebelumnya termasuk kedalam genus *Erwinia* sp. Bakteri LUSI 54 dan 6 berdasarkan penelitian berdasarkan penelitian sebelumnya termasuk kedalam genus

Corynebacterium sp., dan bakteri LUSI 16 berdasarkan penelitian Daulaya (2015) termasuk kedalam genus *Vibrio* sp.

4.4 Pengaruh Aplikasi Bakteri Antagonis terhadap Persentase Kejadian Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai secara *In Vivo*

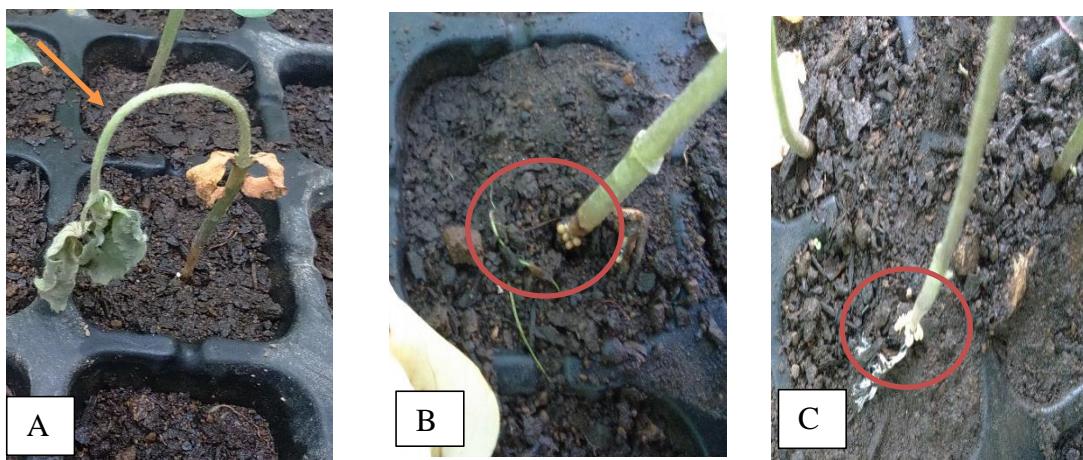
4.4.1 Rerata Persentase Kejadian Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai

Hasil penelitian secara *in vivo* yang dilakukan dirumah kaca yaitu untuk mengetahui pengaruh bakteri antagonis terhadap perkembangan kejadian penyakit rebah semai. Aplikasi bakteri antagonis dilakukan dengan cara perendaman benih dan penyiraman. Penyiraman dilakukan ketika tanaman berumur 6 HST. Hasil analisis ragam (Lampiran 9) uji penekanan kejadian penyakit rebah semai yang disebabkan oleh patogen *S. rolfsii* secara *in vivo* menunjukkan perlakuan antagonis berbeda nyata antar perlakuan kontrol pada pengataman 7 HSI. Presentase rerata kejadian penyakit yang disebabkan oleh *S. rolfsii* dapat dilihat pada (Tabel 7).

Table 7. Rerata Presentase Kejadian Penyakit Rebah Semai pada Tanaman Kedelai.

Perlakuan	Rerata Kejadian Penyakit (%)				
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	28 HSI	35 HSI
P0 (Kontrol)	2.5 b	2.5	3	3.5	3.5
P1 (Fungisida)	0 a	0	0.5	1	1
P2 Isolat LUSI 93	0 a	0.5	1	1	1
P3 Isolat LUSI 54	0 a	0.5	1	1	1
P4 Isolat LUSI 43	0.5 a	0.5	1	1.25	1.25
P5 Isolat LUSI 16	0.5 a	1	1	1	1
P6 Isolat LUSI 6	0 a	0.5	2.5	2.5	2.5

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5 %; Kontrol (P0):aplikasi menggunakan aquadest steril. Keterangan : HSI (Hari Setelah Inokulasi), LUSI : Lumpur Sidoarjo.



Gambar 11. Gejala Kejadian Penyakit Rebah Semai. (A) Gejala layu, (B) Sklerotia pada Pangkal Batang, (C) Miselium pada Permukaan Tanah.

Hasil uji penekanan yang dilakukan secara *in vivo* menunjukkan gejala serangan jamur patogen *S. rolfsii* pada tanaman kedelai mulai tampak pada 7 HSI. Gejala serangan penyakit rebah semai adalah berupa gejala layu, daun menguning, akar tanaman menjadi cokelat dan pertumbuhan abnormal dan terdapat pertumbuhan miselium pada permukaan tanah dan berubah menjadi skelortia seperti biji sawi (Gambar 11). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Akem (1991) gejala pertama yang ditimbulkan yaitu gejala layu dan menguning pada daun, tumbuhnya miselium berwarna putih pada permukaan tanah dan sklerotia berbentuk bulat dan putih matang yang kemudian menjadi coklat tua sampai hitam dengan bentuk menyerupai biji sawi.

Berdasarkan hasil penelitian pengamatan 7 HSI menunjukkan nilai kejadian rebah semai pada tanaman kedelai berbeda nyata terhadap perlakuan P0 (kontrol), namun pada perlakuan yang diaplikasikan tidak menunjukkan nilai yang berbeda nyata. Persentase kejadian penyakit rebah semai tertinggi yaitu P0 sebesar 2.5 % dan persentase kejadian penyakit rebah semai terendah yaitu P1, P2, P3, dan P6 sebesar 0 %. Hal tersebut menunjukkan perlakuan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo telah memberikan efek penekanan terhadap penyakit rebah semai. Hal tersebut dapat dilihat dari persentase kejadian penyakit yang lebih rendah dibandingkan dengan perlakuan kontrol (aquades). Mekanisme penekanan tersebut dipengaruhi

oleh beberapa faktor, menurut Jimenez *et al* (2001) dan Jalgaonwala *et al* (2010) mekanisme biokontrol yang dilakukan oleh bakteri untuk memberikan perlindungan pada tanaman adalah melalui produksi siderophores, metabolit sekunder dengan aktivitas antijamur, produk bioaktif antimikroba, antibiotik, dan kompetisi untuk mendapatkan nutrisi.

Pengamatan 14 HSI hingga 35 HSI menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata hal dengan rerata persentase berkisar 1 – 3,5 %, hal tersebut dikarenakan patogen jamur *S. rolfsii* menyerang dan menimbulkan gejala dengan menghasilkan miselium yang kasar dari jaringan tanaman inang yang terinfeksi dan gejala layu biasanya 2 sampai 10 hari setelah inokulasi ketika kondisi lingkungan hangat dan lembab (Mullen, 2006 ; Ferreira dan Boley, 2006). Selain itu jamur patogen *S. rolfsii* memang dikenal sebagai patogen pembibitan dan tanaman muda. Oleh karenanya dengan bertambahnya umur maka penambahan intensitas penyakit akan semakin menurun dan tetap (Djauhari, 2012).

Persentase kejadian penyakit rebah semai yang dihasilkan kurang dari 5 % dan tergolong rendah. Hal tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan antara lain faktor suhu dan kelembaban. Suhu rata-rata yang dihasilkan pada rumah kaca yaitu berkisar 36-37 ° C dengan tingkat kelembaban sebesar 45-75 %. Sedangkan menurut Ferreira dan Boley (2006) menyatakan pertumbuhan miselium secara optimal pada suhu 25-35 ° C dan akan sedikit terhambat pada suhu diatas 36 ° C, sedangkan kelembaban relatif yang optimal yaitu 25-35 %.

4.4.2 Rerata Persentase Efektifitas Bakteri Antagonis dalam Menekan Penyakit Rebah Semai

Persentase efektifitas bakteri antagonis digunakan untuk mengetahui kemampuan suatu bakteri antagonis dalam menekan penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. Persentase efektifitas bakteri antagonis menunjukkan bahwa beberapa bakteri antagonis efektif dalam mengendalikan penyakit rebah semai. Persentase rerata efektifitas bakteri antagonis dalam menekan penyakit rebah semai pada kedelai dapat dilihat pada (Tabel 8).

Table 8. Rerata persentase efektifitas bakteri antagonis dalam menekan penyakit Rebah Semai

Perlakuan	Efektifitas bakteri antagonis (%)				
	7 HSI	14 HSI	21 HSI	28 HSI	35 HSI
P1 (Fungisida)	100	100	83	71.43	71.43
P2 Isolat LUSI 93	100	80	67	71.43	71.43
P3 Isolat LUSI 54	100	80	67	71.43	71.43
P4 Isolat LUSI 43	87.5	80	67	57.15	57.15
P5 Isolat LUSI 16	100	60	67	71.43	71.43
P6 Isolat LUSI 6	100	17	17	28.58	28.58

Keterangan : HSI (Hari Setelah Inokulasi), LUSI : lumpur Sidoarjo.

Pada pengamatan pertama 7 HSI menunjukkan bakteri antagonis lumpur Sidoarjo efektif dalam mengendalikan penyakit rebah semai. Pengamatan kedua 14 HSI, 21 HSI, 28 HSI, 35 HSI menunjukkan pada perlakuan P6 (Isolat LUSI 6) tidak efektif dalam mengendalikan penyakit rebah semai. Hal tersebut sesuai dengan kriteria efektifitas fungisida menurut Badan Penelitian Dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian (2012) bahwa jika nilai efektifitas fungisida lebih dari 50%, maka insektisida bersifat efektif terhadap patogen sasaran, sebaliknya tidak efektif bila nilainya kurang dari 50%.

Efektifitas beberapa bakteri antagonis lumpur Sidoarjo berbeda-beda, salah satu faktor keberhasilan agens hayati dalam menekan penyakit antara lain ialah kemampuannya dalam mengkolonisasi pada lingkungan yang sama dengan patogen (Handini dan Nawangsih, 2014). Selain itu beberapa bakteri memiliki kemampuan yang sama dengan fungisida dalam menekan penyakit rebah semai. Namun penggunaan fungisida dalam dunia pertanian memiliki dampak negatif terhadap lingkungan. Hal tersebut sesuai pernyataan Cook dan Baker (1983) *dalam* John *et al* (2015) Beberapa pengendalian penyakit pada tanaman dengan menggunakan bahan kimia telah mengakibatkan dampak negatif terhadap lingkungan. Selain itu, penggunaan bahan kimia dapat mengakibatkan resistennya patogen yang selama ini menjadi ancaman besar dalam dunia pertanian (Dekker dan Georgopoulos, 1982 *dalam* John *et al.*, 2015).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Hasil seleksi dari 15 isolat bakteri lumpur Sidoarjo terdapat 5 isolat yang mampu menghasilkan zona hambat dalam menekan pertumbuhan jamur patogen *S. rolfssii*. Lima isolat tersebut termasuk kedalam genus *Corynebacterium* sp, *Erwinia* sp, dan *Vibrio* sp.
2. Terdapat 4 isolat bakteri antagonis lumpur Sidoarjo yang mampu menghasilkan penghambatan yang lebih bagus daripada fungisida, yaitu LUSI 93 dan LUSI 16 dengan genus *Vibrio* sp. LUSI 54 dan LUSI 6 dengan genus *Corynebacterium* sp.
3. Bakteri antagonis lumpur Sidoarjo mampu menekan persentase kejadian penyakit rebah semai secara *in vivo* dengan nilai berbeda nyata pada 7 HSI.

5.2 Saran

Perlu dilakukan pengujian secara konsorsium untuk menekan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfssii* sehingga menjadi alternatif pengendalian efektif dan efisien yang ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology.Fifth Edition. San Diego. California: Academic Press.
- Aini, L.Q., M.A.Syib'li., T.Wijayanti., W.K.Sigit., dan M.S.Hadi. 2014. Eksplorasi Bakteri Bermanfaat Dari Lumpur Sidoarjo. Laporan Penelitian Kerjasama BPLS dan Tim Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Akem,C.N.1991. First Report of Southern Blight Caused by *Sclerotium rolfsii* on SoybeanInNigeria.http://www.apsnet.org.proxy2.library.illionis.edu/publication/plantdisease/backissues/documents/1991abstracts/PD_75_537D.htm
- Astiko, W, I. Muthahana, dan Y. Fitrianti. 2009. Uji Ketahanan Beberapa Varietas Kacang Tanah Lokal Bima Terhadap Penyakit *Sclerotium Rolfsii* Sacc. Program Studi Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Mataram. 2 (1) : 47.
- Bentley, R dan Bennett, J.W. 2003. What is an Antibiotic? Revisited. Departement of Biological Science. University of Pittsburgh.
- Curtis, D.S., Lima, G., Vitullo, D., dan Cocco, V.D. 2010. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* on tomato by Delivering Antagonistic Bacteria Through a Drip Irrigation System. Departement of Animal, Plant, and Environmental Science. University of Molise. Italy. 27 : 664.
- Daulay, D, M. 2015.Potensi Bakteri Bermanfaat Dari Lumpur Sidoarjo Untuk Mengendalikan Penyakit Busuk Lunak *Erwinia* sp. Pada Umbi Kentang.
- Etesami, H. dan Alikhani, H.A. 2016. Rhizosphere and endorhiza of oilseed rape (*Brassica napus* L) plant harbor bacteria with multifaceted benefical effects. Dept of Science. University of Tehran. Iran.
- Faske, T., Kirkpatrick, T., Zhou, Z., dan Tzanestakis, I. 2014. Soybean Diseases. Division of Agriculture Research and Extension. University of Anhanas.
- Ferreira, S.A. dan Boley, R.A. 2006. *Sclerotium rolfsii*. Departement of Plant Pathology. University of Hawai. Manoa.
- Grossart, H.P., Schlingloff, A., Bernhard, M., Simon, M., dan Brinkhoff, T. 2004. Antagonistic activity of bacteria isolated from organic aggregates of the German Wadden Sea. Institute for Chemistry and Biology of the Marine Environment. University of Oldenburg. Germany. 47 : 387-396.
- Haas, D. dan Defago, G. 2005. Biological Control Of Soil-Borne Pathogens By *Fluorescent Pseudomonads*. Nature Reviews Microbiology.
- Habibie, F.M., Wardani, A.K., dan Nurcholis, M. 2014. Isolasi Dan Identifikasi Molekuler Mikroorganisme Termofilik Penghasil Xilanase Dari Lumpur Panas Lapindo. Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. 2 (4) : 231-238.

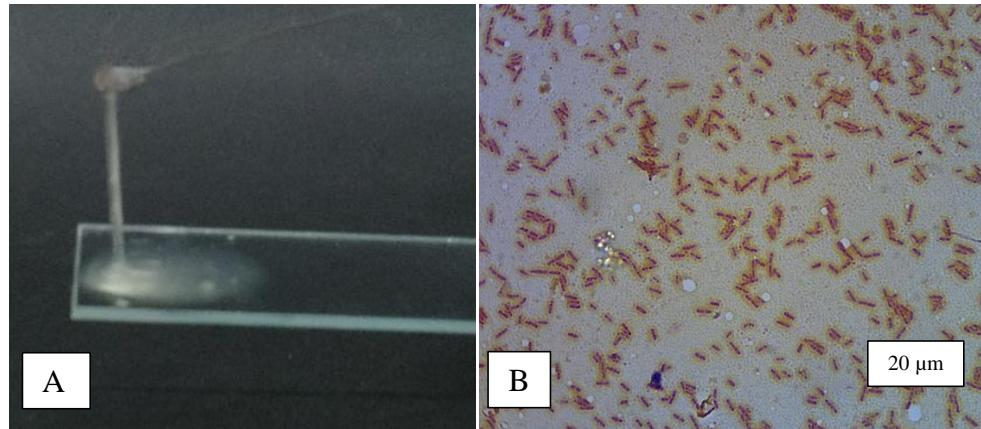
- Handini, Z.V.T dan Nawangsih, A.A. 2014. Keefektifan Bakteri Endofit dan Bakteri Perakaran Pemacu Pertumbuhan Tanaman dalam Menekan Penyakit Layu Bakteri pada Tomat. Jurnal Fitopatologi Indonesia. DOI: 10.14692/jfi.10.2.61. p 66.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Maryland, USA: Williams and Wilkins.
- Jalgaonwala, R.E., Mohite, B.V., dan Mahajan, R.T. 2010. Evaluation of Endophytes for their Antimicrobial activity from Indigenous Medicinal Plants belonging to North Maharashtra region India. Journal on Pharmaceutical and Biomedical Research. 1 (5) : 136- 141.
- Jayasumarta, D. 2012. Pengaruh system olah tanam dan pupuk P terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai (*G.max*). Fakultas pertanian. Universitas Muhamadyah. Sumatra utara.
- Jimenez, M.B., Flores, S.A., Del Valle, M.V., Perez, A., Zepeda, A., Zenteno, E. 2001. Endophytic bacteria in rice seeds inhibit early colonization of roots by *Azospirillum brasiliense*. Soil Biology & Biochemistry. 33 : 167-172.
- John, S.N., Anjanadevi, L.P., Nath, V.S., Sankar, S.A., Jeeva, M.L., John, K.S., Misra, R.S. 2015. Characterization of *Trichoderma* isolates against *Sclerotium rolfsii*, the Collar Rot Pathogen of Amorphophalus – A Polyphasic approach. Journal Biological Control. 90 : 165.
- Juniawan, A., Ruhmayati, B., dan Ismuyanto, B. 2012. The Effect of Carbon Organic Total and Salinity on The Discharge of Heavy Metals Pb and Cu in Lapindo Mud into the Aloo River. Department of Chemistry. Faculty of Mathematics and Natural Sciences . University of Brawijaya. Malang. 1 (1) : 41.
- Kannahi, M. dan Dhivya, S. 2015. Plant Growth Promoting Potentiality Of Mangrove Rhizospheric Organisms. Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science. 4 (9) : 1470-1476.
- Kasutjianingati, P., Roedhy., Widodo, Khumaida, N., dan Efendi, D. 2011. Efektifitas Aplikasi In-vitro Rizobakteri Sebagai Agen Antagonis Layu *Fusarium* pada Pisang Rajabulu/AAB di Rumah Kaca. J. Hort. Indonesia. 2 (1) : 36.
- Kator, L., Hosea, Z.Y., dan Oche, O.H. 2015. *Sclerotium rolfsii*; Causative organism of southern blight, stem rot, white mold and sclerotia rot disease. Biological Research, 2015, 6 (11):78-89.
- Magenda S, E. F. Febby, D. U Stella. 2011. Karakteristik Isolat Jamur *Sclerotium rolfsii* dari Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* Linn.). Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.

- Margono, T., Detty, S., Hartinah, S. 2000. Susu Kedelai. Kantor Deputi Menegristek Bidang Pendatagunaan dan Pemasyarakatan Ilmu Pengetahuan dan teknologi. Jakarta.
- Padmaja, M, Narendra, K., Swathi, J., Sowjanya, K. M., dan Jawahar Babu, P. 2013. In Vitro Antagonism of Native Isolate of *Trichoderma* spp. Against *Sclerotium rolfsii*. International Journal of research in Pharmaceutical and biomedical science.
- Pal, K. K. and B. Mc Spadden, Gardener, 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor . 5 : 2-5.
- Pratita, M.Y.E. dan Putra, S.R. 2012. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Panas Di Songgoriti Setelah Dua Hari Inkubasi. Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Teknologi Sepuluh Nopember (ITS). 1 (1) : 1-3.
- Punja, Z.K. 1985. The Biology, Ecology, and Control of *Sclerotium rolfsii*. Campbell Institute for Research and Technology. 23 : 97- 105.
- Raharini, A.O., Kawuri, Retno., dan Khalimi, Khamdan. 2012. Penggunaan *Streptomyces* sp. Sebagai Biokontrol Penyakit Layu Pada Tanaman Cabai Merah (*Capsicum annuum L.*) yang Disebabkan Oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *capsici*. Fakultas Pertanian. Universitas Udayana. 2 (2) :155.
- Rahayu, R.D. 2008. Pengaruh Pemanfaatan Bahan Organik Paitan (*Thitonia diversifolia*), Kotoran Ayam, Kotoran Sapi dan Lumpur Lapindo Terhadap pH Tanah dan Kation basa Tanah (dd) serta Pertumbuhan Tanaman Jagung *Zea mays* Pada Inceptiol Porong Sidoarjo. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Ren, Z.Z., Zheng,Y., Sun, M., Liu, J.Z., dan Wang, Y.J. 2007. Purification and Properties of an Antimicrobial Substance from Marine *Brevibacillus laterosporus* Lh-1. Environ Entomol. 37 : 505-9.
- Rokhlani., Patiningsih, N., dan Soesanto, L. 2005 Penekanan Beberapa Antagonis Terhadap Penyakit Layu *Fusarium gladiol*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan. Fakultas Pertanian. Universitas Jendral Soedirman. p 4.
- Saikia, R., Gogoi, D.K., Mazumber, S., Yadav, A., Sarma, R.K., Bora, T.C., dan Gogoi, B.K. 2011. *Brevibacillus laterosporus* strain BPM3, a Potential Biocontrol Agent Isolated from a Natural Hot Water Spring of Assam, India. Microbiological Research. Pp 216-225.
- Sastrahidayat, I.R., Djauhari, S., Prasetya, B., dan Saleh, N. 2011. Biocontrol Of Damping-Off Disease (*Sclerotium rolfsii* Sacc.) Using Actinomycetes And Vam Fungi On Soybean And Impact To Crop Production And Microorganism Diversity In Rhizosfer Zone. Agriculture Faculty of Brawijaya University. Malang. J. Acad. Sci. 3 (6) : 114.

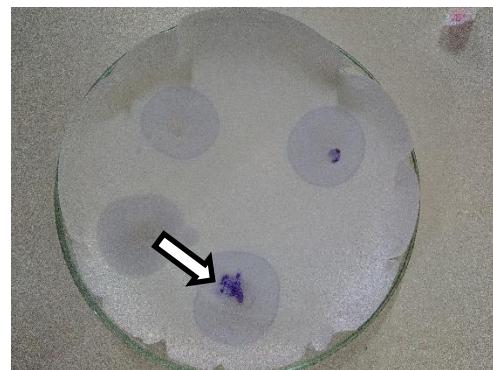
- Schaad, N. W., Jones, J. B. dan Chun, W. 2001. Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria. Ed ketiga. APS Press. St. Paul Minnesota.
- Semangun, H. 1993. Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogjakarta.
- Sennoi, R., Singkham, N., Jugloy, S., Boonlue, S., Saksirirat, W., Kesmala, W., dan Patanothai, A. 2013. Biological Control Of Southen Stem Rot Caused by *Sclerotium rolfsii* Using Trichoderma harzianum and Arbuscular Mycorrhizal Fungi on Jerrusalem Artichuke (*Helianthus tuberousus* L.). Dept of Plant Science and Agricultural Resources. Faculty of Agricultural. Khon Koen University. Thailand.
- Sharma, A., Diwevidi, V.D., Signh, S., Pawar, K.K., Jerman, M., Signh, L.B., Singh, S., dan Srivastawa, D. 2013. Biological Control and its Important in Agriculture. Journal of Biotechnology and Bioengineering Research. 4 (3) : 175-180.
- Signh. G. 2010. The Soybean, Botany, Production, Uses. Departemen of Plant Breeding and Genetics Punjab Agricultural University Ludhiana. India.
- Soekarno, B.P.W., Surono., dan Hendra. 2013. Optimalisasi Peran Kompos Bioaktif Dengan Penambahan Asam Humat Dan Asam Fulvat Untuk Meningkatkan Ketahanan Tanaman Mentimun Terhadap Serangan *Pythium* Sp. Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik. 15 (1) : 35-43.
- Solomon, F.E. dan Viswalingam, K. 2013. Isolation, Characterization of Halotolerant bacteria and its biotechnological potentials. Department of Bio Medical Engineering. Bharath University. India. 4 (3) : 1.
- Stein, T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, syntheses and specific functions. Mikrobiologi Molekuler. 56 (4), 845–857.
- Sukamto dan Wahyuno, D. 2013. Identifikasi Dan Karakterisasi *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Busuk Batang Nilam (Pogostemon Cablin Benth)Identification And Characterization Of *Sclerotium rolfsii* Sacc. The Causal Agent Of Stem Rot Disease Of Patchouli (Pogostemon Cablin Benth). Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. 24 (1) : 37.
- Sumartini. 2011. Penyakit Tular Tanah *Sclerotium rolfsii* Dan *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kacang-kacangan Dan Umbi-Umbian Serta Cara Pengendaliannya. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-Umbian . Jurnal Litbang Pertanian. 31 (1) : 3-5.
- Uddin, W. 2001. Pyraclostrobin: A promising new fungicide for turfgrass professionals. <http://archive.lib.msu.edu/tic/tgtre/article/2001nov4.pdf>.
- Ventosa, A., E. Mellado, C. Sanchez-Porro and M. Marquez , 2008. Halophilic and halotolerant micro-organisms from soils. Berlin Springer-Verlag, Berlin, Germany.

- Viikari, L., Kantelineen, A., Sundquist, J., dan Linko, M. 1994. Xylanases in bleaching: From an idea to the industry. *Microbiology Reviews*. 2 (3) : 335-350.
- Wahyuna, D., Agustien, A., dan Periadnadi. 2012. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Termo-Proteolitik Sumber Air Panas Sungai Medang, Sungai Penuh, Jambi. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 1 (2) : 93-98.
- Woese, C.R. and G.E. Fox, 1977. Phylogenetic structure of the prokaryotic domain: The primary kingdoms. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 74: 5088–5090.
- Zhang, Y. 2004. Biocontrol Sclerotina Stem Rot of Canola by Bacterial Antagonist and Study of Biocontrol Mechanism Involved. Thesis. University of Manitoba.

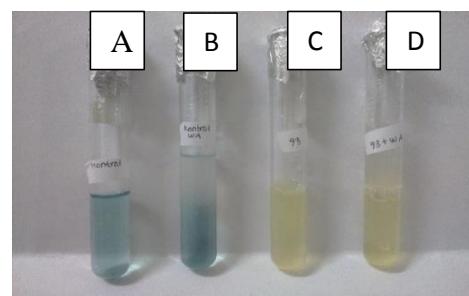
LAMPIRAN



Gambar lampiran 1. Pengujian Gram isolat LUSI 93



Gambar lampiran 2. Uji oksidase isolat LUSI 93



Gambar lampiran 3. Uji fermentasi isolat LUSI 93



Gambar lampiran 4. Pertumbuhan isolat LUSI 93 di media NA⁺



Gambar lampiran 5. Uji hipersensitif isolat LUSI 93



LUSI 6 tampak depan



LUSI 6 tampak belakang



LUSI 54 Tampak depan



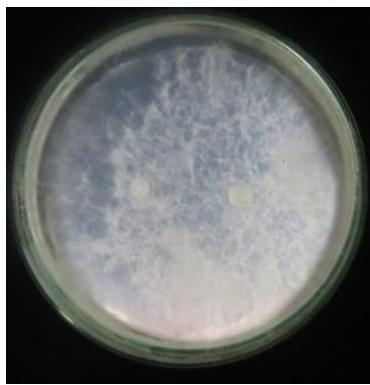
LUSI 54 Tampak belakang



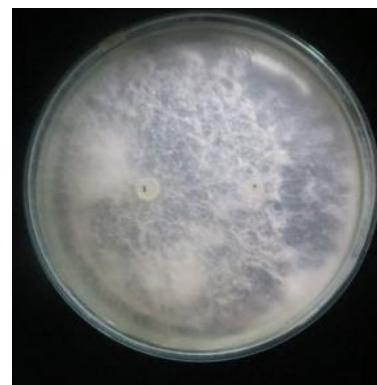
LUSI 93 tampak depan



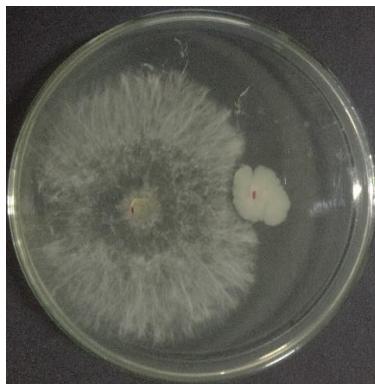
LUSI 93 tampak belakang



Kontrol tampak depan



Kontrol tampak belakang



LUSI 43 tampak depan



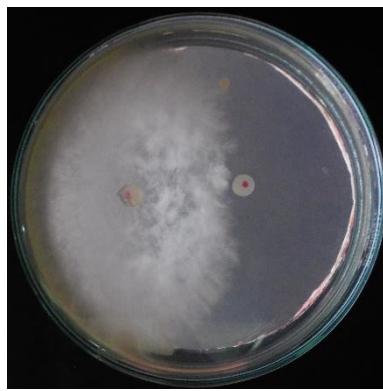
LUSI 43 tampak belakang



LUSI 16 tampak depan



LUSI 16 tampak belakang

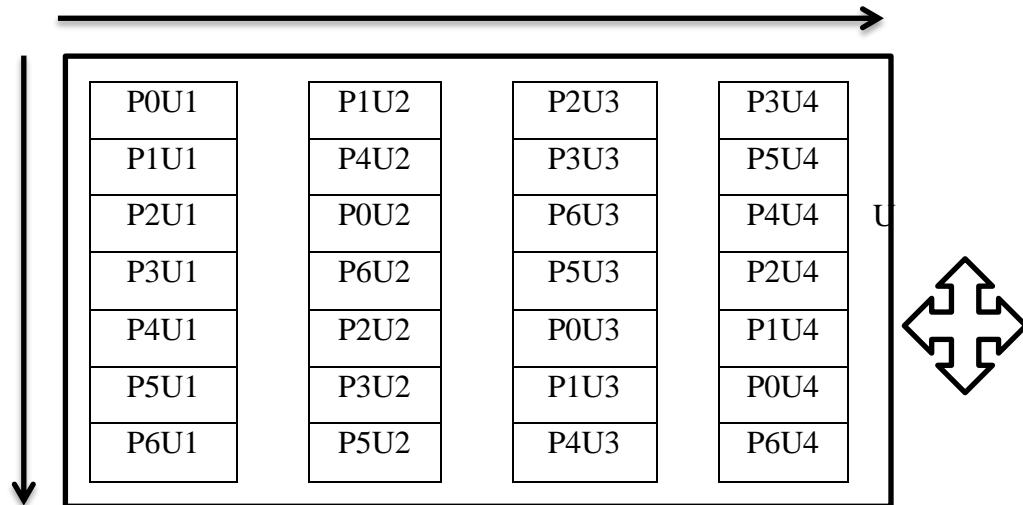


Fungisida tampak depan



Fungisida tampak belakang

Gambar lampiran 6. Dokumentasi uji antagonis jamur *S.rrolfsii* dengan bakteri antagonis pada media buatan NA umur 96 jam setelah tanam.



Gambar lampiran 7. Denah percobaan uji penekanan bakteri antagonis terhadap *S.rrolfsii In Vivo*



Sterilisasi Tanah



Benih setelah tanam



Gejala Layu



S.rolfsii menyerang pada pangkal batang



Tanaman kedelai umur 27 HST

Gambar lampiran 8. Dokumentasi uji penekanan penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *S. rolfsii* secara *in vivo*

Tabel lampiran 1. Tabel anova persentase daya hambat pertumbuhan *S.rolfssii* umur 72 JST

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F Tabel
Perlakuan	215.23	5	43.05	2.476 ^{TN}	0.07
Galat	312.89	18	17.38		
Total	528.12	23	22.96		

Tabel lampiran 2. Tabel anova persentase daya hambat pertumbuhan *S.rolfssii* umur 96 JST

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F Tabel	
					5 %	1 %
Perlakuan	2566.14	5	513.23	46.83**	1.08	4.25
Galat	197.29	18	10.96			
Total	2763.43	23	120.15			

Tabel lampiran 3. Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 7 HSI

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F.Hit	F Tabel
Kelompok	3.86	3	1.29	1.095 ^{TN}	3.16
Perlakuan	20	6	3.33	2.84*	0.04
Galat	21.15	18	1.175		
Total	45	27	1.67		

Tabel lampiran 4. Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 14 HSI

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F. Hit	F Tabel
Kelompok	11.86	3	3.95	1.50 ^{TN}	3.16
Perlakuan	24.86	6	4.14	1.58 ^{TN}	0.20
Galat	47.15	18	2.62		
Total	83.86	27	3.10		

Tabel lampiran 5. Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 21 HSI

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F. Hit	F Tabel
Kelompok	14.86	3	4.95	1.19 ^{TN}	3.16
Perlakuan	20.86	6	3.48	0.83 ^{TN}	0.56
Galat	75.13	18	4.17		
Total	110.86	27	4.10		

Tabel lampiran 6. Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 28 HSI

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F. Hit	F Tabel
Kelompok	7.25	3	2.42	0.59 ^{TN}	3.16
Perlakuan	23.93	6	3.98	0.98 ^{TN}	0.47
Galat	73.5	18	4.08		
Total	104.68	27	3.88		

Tabel lampiran 7. Tabel anova persentase kejadian penyakit rebah semai 35 HSI

Sumber Keragaman	JK	db	KT	F. Hit	F Tabel
Kelompok	7.25	3	2.42	0.59 ^{TN}	3.16
Perlakuan	23.93	6	3.99	0.98 ^{TN}	0.47
Galat	73.5	18	4.08		