

**KEMAMPUAN ANTAGONIS ISOLAT ENTOMOPATOGEN
Beauveria bassiana dan *Metarhizium anisopliae*
TERHADAP *Rhizoctonia solani***

SKRIPSI

**Oleh :
WIWIN MISNATI NUR INDAHSAARI**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**KEMAMPUAN ANTAGONIS ISOLAT ENTOMOPATOGEN
Beauveria bassiana dan *Metarhizium anisopliae*
TERHADAP *Rhizoctonia solani***

Oleh:

WIWIN MISNATI NUR INDAHSARI

145040201111159

**MINAT STUDI PERLINDUNGAN TANAMAN
PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI**

SKRIPSI

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

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

PERNYATAAN

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

Malang, Agustus 2018

Wiwin Misnati Nur Indahsari



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian : Kemampuan Antagonis Isolat Entomopatogen *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* terhadap *Rhizoctonia solani*

Nama Mahasiswa : Wiwin Misnati Nur Indahsari

NIM : 145040201111159

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi



Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

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

Rina Rachmawati, SP., MP., M.Eng.
NIP . 19810125 200604 2 002

Mengetahui,

Ketua
Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan



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

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I,

Penguji II,



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



Rina Rachmawati, SP., MP., M.Eng.
NIP. 19810125 200604 2 002

Penguji III,

Penguji IV,



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



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

Tanggal Lulus: 02 AUG 2018



Jangan tunda apapun!

Karena waktu tak dapat kembali walau hanya 1 detik



*Dengan kerendahan hati yang tulus, bersama keridhaan-Mu
Ya Allah
Skripsi ini saya persembahkan untuk
orangtuaku dirumah, orangtuaku di kampus, dan semua
orang yang menyayangiku dan mengajarkanku arti
kehidupan yang sesungguhnya*

RINGKASAN

Wiwin Misnati Nur Indahsari. 14504020111159. Kemampuan Antagonis Isolat Entomopatogen *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* terhadap *Rhizoctonia solani*. Di bawah bimbingan Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. dan Rina Rachmawati SP., MP., M.Eng.

Rhizoctonia solani adalah patogen tular tanah yang sangat penting karena menyerang berbagai jenis tanaman di seluruh dunia, juga penyebab penyakit rebah kedelai yang merugikan secara ekonomis. Produksi kedelai sangat menurun dikarenakan serangan penyakit ini, dalam waktu dua hari mampu menimbulkan serangan hingga 90%. Mempertimbangkan pengendalian menggunakan pestisida kimia dan masalah yang ditimbulkan, penggunaan mikroorganisme menjadi solusi untuk melindungi tanaman dari serangan patogen. Mikroorganisme yang sudah digunakan sebagai agen antagonis penyakit adalah jamur entomopatogen. Jamur entomopatogen yang pernah digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman adalah jamur *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae*. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana kemampuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dalam mengendalikan penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2018 di Laboratorium Pengendalian Hayati, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya. Jamur entomopatogen yang diuji yaitu terdiri dari jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae*. Penelitian terdiri dari percobaan untuk menentukan persentase penghambatan secara *in vitro* dan persentase kejadian penyakit yang dilakukan dirumah kaca. Data dianalisis menggunakan anova dan diuji lanjut menggunakan uji BNT pada taraf 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada percobaan untuk menentukan nilai persentase penghambatan pada 7 hsi secara *in vitro* oleh jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae* berturut-turut 69,72% dan 52,12%. Persentase kejadian penyakit pada 7 hsi oleh jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae* berturut-turut 2,40% dan 2,96%. Aktivitas jamur entomopatogen *B. bassiana* dan *M. anisopliae* menunjukkan antagonis yang sama sebagai agens hayati terhadap cendawan *R. solani*.

Kata Kunci: Antagonis, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *R. solani*, Entomopatogen

SUMMARY

Wiwin Misnati Nur Indahsari. The Antagonistic Abilities of Entomopathogen *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to *Rhizoctonia solani*. 145040201111159. Supervized Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. and Rina Rachmawati SP., MP., M.Eng.

Rhizoctonia solani is a soil-borne pathogen that is very important because it attacks various types of plants around the world, also causes the disease to fall economically. Soybean production is greatly reduced due to the attack of this disease, within two days can cause attacks up to 90% . Considering control using chemical pesticides and the problems caused, the use of microorganisms into a solution to protect plants from pathogen attack. Entomopathogenic fungi are one of the microorganisms that have been used as plant pathogenic antagonists. The entomopathogenic fungi that have been used to control plant diseases are *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. Therefore this study aims to determine how the ability of *B. bassiana* and *M. anisopliae* in controlling the disease of sprouts fall on soybean plants.

The study was conducted from March to June 2018 at the Biological Control Laboratory, Department Plant Pest and Disease, Faculty of Agriculture, Brawijaya University. The entomopathogenic fungi tested consisted of *B. bassiana* and *M. anisopliae* fungi. The study consisted of experiments to determine *in vitro* inhibition percentage rates and percentage of incidence of illness conducted in a glass house. Data were analyzed using anova and tested further using BNT test at 5% error.

The results showed that inhibition *in vitro* percentage of *B. bassiana* and *M. anisopliae* respectively 69,72% and 52,12% on 7 dpi. In the experiment to determine *in vivo* percentage of disease incidence of *B. bassiana* and *M. anisopliae* respectively 2,40% dan 2,96%. Entomopathogenic activity of *B. bassiana* and *M. anisopliae* showed the same antagonist activity to *R. solani*.

Keywords: Antagonist, *B. bassiana*, *M. anisopliae*, *R. solani*, Entomopathogen

KATA PENGANTAR

Puji syukur senantiasa penulis sampaikan ke hadirat Allah SWT karena dengan limpahan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Kemampuan Antagonis Isolat Entomopatogen *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae* terhadap *Rhizoctonia solani*. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis telah banyak mendapatkan bantuan dan bimbingan tak ternilai oleh berbagai pihak. Penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Bapak Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS. selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan arahan, bimbingan, perhatian dan masukannya yang sangat berarti bagi penulis sehingga laporan ini dapat terselesaikan.
2. Ibu Rina Rachmawati, SP., MP., M.Eng. selaku Pembimbing Kedua yang juga telah memberikan arahan, bimbingan, perhatian dan masukannya yang sangat berarti bagi penulis sehingga laporan ini dapat terselesaikan.
3. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
4. Bapak Ponari serta Ibu Matrem (almarhumah), Ibu Rini Widyanti, Mbah Suta, Mbah Makri terimakasih atas doa, cinta, kasih sayang, dan semua dukungan material maupun non material yang selama ini diberikan tanpa henti.
5. Dimas Satriyo Wibowo yang selalu memberikan dukungan, kritikan, dan saran sehingga menjadi pribadi yang lebih baik lagi
6. dan semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah berperan dalam suksesnya penyusunan laporan skripsi ini.

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

Malang, Agustus 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis bernama Wiwin Misnati Nur Indahsari. Penulis lahir di Lumajang pada tanggal 24 Mei 1996 dari pasangan bapak Ponari dan ibu Matrem. Penulis merupakan putri tunggal.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Negeri 6 Pasirian (2002-2008), selanjutnya di SMP Negeri 1 Pasirian (2008-2011), kemudian melanjutkan pendidikan di SMA Negeri 1 Pasirian (2011-2014). Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa strata 1 program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang melalui jalur undangan Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Saat peminatan, penulis mengambil jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan (HPT).

Selama menempuh pendidikan di Perguruan Tinggi, penulis pernah menjadi koordinator asisten praktikum Teknologi Produksi Agens Hayati (2018). Selain itu, penulis pernah aktif mengikuti organisasi Eksekutif Mahasiswa (EM) Kementrian Sosial Masyarakat (2015), serta pernah aktif di kepanitiaan PROTEKSI DAN PPO HIMAPTA FP UB (2017). Penulis pernah melakukan kegiatan magang kerja selama 2 bulan di Handoyo Budi Orchids Malang. Penulis juga pernah bekerja sebagai petugas input data di Badan Pusat Statistika Lumajang selama 2 bulan, bekerja sebagai tentor di Bimbingan Belajar CC Kota Malang selama 3 tahun.

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan Penelitian	2
1.4 Hipotesis Penelitian	2
1.5 Manfaat Penelitian	2
2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Bioekologi <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Beauveria bassiana</i> , dan <i>Metarhizium anisopliae</i>	3
2.2 Kemampuan Entomopatogen Mengendalikan Patogen	5
2.3 Mekanisme Entomopatogen Mengendalikan Patogen	6
3. PROSEDUR PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	10
3.3 Metode Penelitian	10
3.4 Persiapan Penelitian	10
3.4.1 Pembuatan Media PDA dan EKD	10
3.4.2 Perbanyak Isolat <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Beauveria bassiana</i> dan <i>Metarhizium anisopliae</i>	11
3.4.3 Persiapan Media Tanam	12
3.5 Pelaksanaan Penelitian	12
3.5.1 Uji Antagonis secara <i>in vitro</i>	12
3.5.2 Uji Antagonis pada Tanaman Kedelai secara <i>in vivo</i>	13
3.5.3 Efektifitas Jamur Entomopatogen	14
3.6 Analisis Data	15



4. HASIL DAN PEMBAHASAN	16
4.1 Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur <i>R. solani</i> secara <i>in vitro</i>	16
4.2 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah secara <i>in vivo</i>	18
4.3 Efektifitas Jamur Entomopatogen Mengendalikan <i>R. solani</i>	21
5.KESIMPULAN DAN SARAN	23
5.1 Kesimpulan	23
5.2 Saran	23
DAFTAR PUSTAKA.....	24
LAMPIRAN	30



DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Persentase penghambatan jamur entomopatogen terhadap jamur <i>R. solani</i> secara <i>in vitro</i>	16
2.	Persentase kejadian penyakit rebah kecambah secara <i>in vivo</i>	18
3.	Rerata Persentase Serangan Penyakit Rebah Kecambah	21

Lampiran

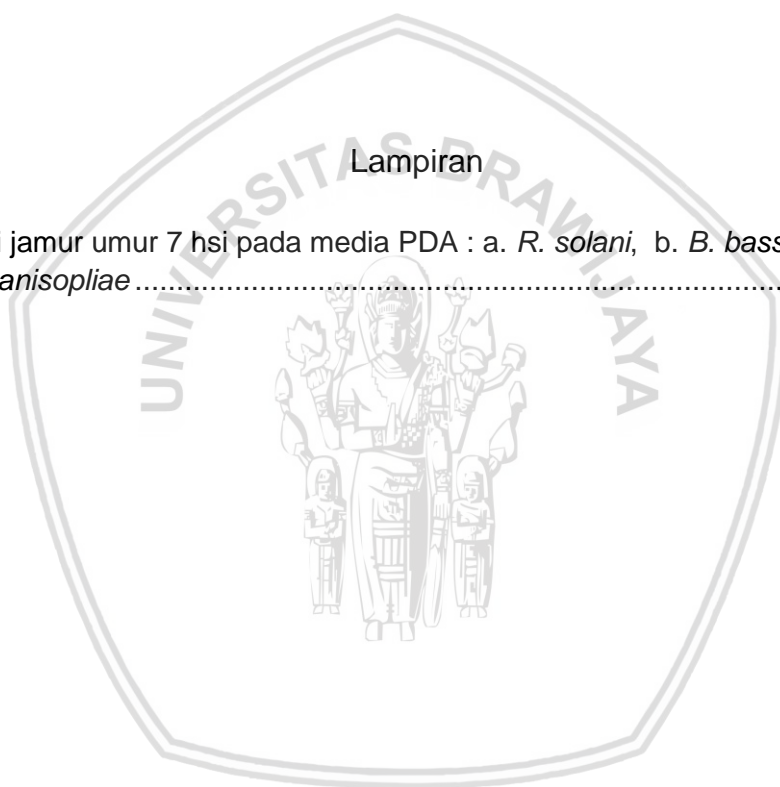
1.	Analisis Uji t Persentase Daya Hambat Pertumbuhan <i>R.solani</i> oleh <i>B. bassiana</i> dan <i>M. anisopliae</i>	31
2.	Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 3 hsi.....	31
3.	Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 4 hsi.....	31
4.	Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 5 hsi.....	31
5.	Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 6 hsi.....	32
6.	Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 7 hsi.....	32

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Kenampakan mikroskopis <i>R. solani</i>	3
2.	Kenampakan mikroskopis <i>B. bassiana</i>	4
3.	Kenampakan mikroskopis <i>M. anisopliae</i>	5
4.	Metode dual culture dalam satu cawan uji antagonis berdiameter 9 cm.....	13
5.	Hasil uji antagonis di media PDA pada 7 hsi.....	17
6.	Bibit tanaman kedelai 7 hsi	19

Lampiran

1.	Koloni jamur umur 7 hsi pada media PDA : a. <i>R. solani</i> , b. <i>B. bassiana</i> , c. <i>M. anisopliae</i>	33
----	---	----



1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rhizoctonia solani adalah patogen tular tanah yang sangat penting karena menyerang berbagai jenis tanaman di seluruh dunia (Anees *et al.*, 2010). *R. solani* juga salah satu penyakit penyebab rebah kedelai yang merugikan secara ekonomis. *R. solani* mampu menurunkan produksi kedelai dan dalam waktu dua hari menimbulkan serangan hingga 90% (Semangun, 1993). *R. solani* sulit dikendalikan karena memiliki berbagai macam tanaman inang (Cook *et al.*, 2002) dan patogen dapat bertahan hidup untuk waktu yang lama dengan membentuk struktur istirahat berupa sklerotia (Grosch *et al.*, 2006). Mempertimbangkan pengendalian menggunakan pestisida kimia dan masalah yang ditimbulkan, penggunaan mikroorganisme menjadi solusi untuk melindungi tanaman dari patogen *R. solani* (Ewekeye *et al.*, 2013).

Penggunaan mikroorganisme sebagai agens hayati mengacu pada mekanisme kerja dengan mengganggu kelangsungan hidup patogen tanaman. Mikroorganisme yang sudah terbukti mampu menekan pertumbuhan patogen tanaman adalah golongan jamur dan bakteri. Pada golongan bakteri spesies *Bacillus* ditemukan aktif melawan *Raffaelea lauricola* dan *Fusarium euwallaceae* pada pertanaman alpukat di Florida dan California (Dunlap *et al.*, 2016). *Pseudomonas fluorescent* juga dilaporkan dapat melawan patogen *R. solani* pada tanaman kacang tanah di Iran (Tohid *et al.*, 2017). Sedangkan golongan jamur dibagi menjadi 2 yaitu jamur entomopatogen dan jamur antagonis. Pada umumnya pengendalian patogen memanfaatkan jamur antagonis, akan tetapi semakin berkembangnya ilmu pengetahuan penggunaan jamur entomopatogen tidak hanya digunakan sebagai pengendali serangga hama, namun berpotensi sebagai antagonis patogen tanaman (Sasan dan Bidochka, 2013). Jamur entomopatogen yang sudah dilaporkan mampu mengendalikan patogen tanaman adalah jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae* (Lozano-Tovar *et al.*, 2017).

B. bassiana dapat memberikan perlindungan dari penyakit bibit kapas yang disebabkan oleh *R. solani* (Griffin, 2007). Isolat *B. bassiana* juga telah dievaluasi dapat melindungi gandum dari penyakit yang disebabkan oleh *G. graminis* (Renwick *et al.*, 1991) dan secara signifikan mengurangi infeksi *F. oxysporum* penyebab busuk pangkal batang bawang (Flori dan Roberti, 1993). Aplikasi isolat *B. bassiana* pada biji tomat menghasilkan perlindungan terhadap

penyakit rebah kecambah yang disebabkan *R. solani* (Ownley *et al.*, 2004). Selain itu *M. anisopliae* juga termasuk jamur entomopatogen yang dilaporkan dapat mengendalikan penyakit tanaman. Isolat *M. anisopliae* dilaporkan dapat mengurangi kejadian penyakit pada tanaman tembakau yang disebabkan patogen *R. solani* (Kern *et al.*, 2010).

Isolat jamur *B. bassiana* BeKBP1 dan isolat jamur *M. anisopliae* MetMJK1 merupakan isolat jamur yang didapatkan melalui isolasi di lapang pada hama wereng yang terserang jamur entomopatogen pada pertanaman padi. Jamur ini bersifat parasit fakultatif. Ketika jamur entomopatogen tumbuh pada jaringan inang yang hidup dan menyebabkan kematian pada serangga hama, jamur bersifat parasit. Jamur entomopatogen dapat berkolonisasi dengan tanaman tanpa mengganggu kelangsungan hidup tanaman inang (Behie *et al.*, 2015). Oleh karena itu dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antagonis antara isolat entomopatogen *B. bassiana* (BeKBP1) dan *M. anisopliae* (MetMJK1) dalam mengendalikan penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dalam penelitian ini yaitu bagaimana daya antagonis antara isolat BeKBP1 dan MetMJK1 dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* dan menekan kejadian penyakit rebah kecambah kedelai.

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antagonis antara isolat BeKBP1 dan MetMJK1 dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* dan menekan kejadian penyakit rebah kecambah kedelai

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini yaitu daya antagonis antara isolat BeKBP1 dan MetMJK1 berbeda dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* serta menekan kejadian penyakit pada pembibitan kedelai.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu memberikan informasi mengenai daya antagonis antara isolat BeKBP1 dan MetMJK1 untuk mengendalikan rebah kecambah tanaman kedelai yang disebabkan oleh patogen *R. solani*.

2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bioekologi *Rhizoctonia solani*, *Beauveria bassiana*, dan *Metarhizium anisopliae*

a. *Rhizoctonia solani*

R. solani memiliki hifa berbentuk sudut 45° pada percabangannya dan lama kelamaan tegak lurus dan ukuran antar cabangnya sama (Gambar 1). Diameter hifa jamur *R. solani* berukuran 4–13 µm, berwarna hialin, bersekat dan mempunyai pori yang disebut dolipori (Semangun, 1993). Cendawan *R. solani* hidup terutama pada tanah yang lembap. Cendawan ini dapat membentuk struktur dorman, yaitu sklerotia pada permukaan tanah atau pangkal batang. Sklerotia terbentuk dari hifa jamur yang mengalami agregasi. Sklerotia mempunyai kulit tebal dan keras sehingga tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, terutama kekeringan dan suhu tinggi. Masa dorman akan berakhir jika kondisi lingkungan cocok untuk perkembangannya. Bahan-bahan kimia yang bersifat menguap yang dihasilkan oleh akar tanaman akan menstimulasi sklerotia untuk segera berkecambah menjadi hifa yang siap menginfeksi bagian tanaman pada daerah rizosfer (Soenartiningih, 2009).



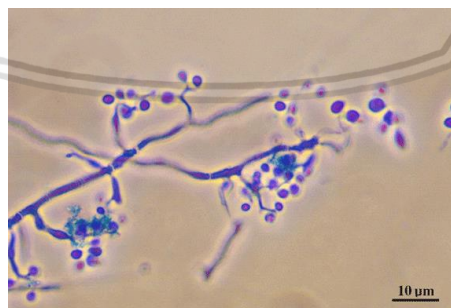
Gambar 1. Kenampakan mikroskopis *R. solani* (Butler dan Bracker, 1970)

R. solani adalah patogen tular tanah yang sangat penting karena menyerang berbagai jenis tanaman di seluruh dunia (Anees *et al.* 2010). Serangan yang ditimbulkan juga bervariasi tergantung inang yang terserang. Serangan dapat berupa penyakit busuk pelepah (Soenartiningih, 2009), busuk akar dan pengerdilan bibit mengakibatkan berkurangnya kemampuan untuk mengakses air dan nutrisi (Paulitz *et al.*, 2002). Tanaman inang cendawan *R. solani* sangat luas, meliputi famili Leguminosae (kedelai, kacang tanah, kacang hijau, kacang merah, buncis), Gramineae (padi, jagung, sorgum, terigu,

rumpun teki), Solanaceae (tomat, terong, kentang), Cucurbitaceae (kelompok labu), kubis, wortel, bit gula, bawang merah, krisan, dan tembakau (Semangun, 1993), kapas (Griffin, 2007), tembakau (Kern *et al.*, 2010).

b. *Beauveria bassiana*

Jamur *B. bassiana* termasuk ke dalam kelas Ascomycetes, ordo Hypocreales, famili Clavicipitaceae, genus *Beauveria* (Hughes, 1971). *B. bassiana* merupakan salah satu jamur patogen serangga yang paling umum menyerang serangga dari beberapa ordo dan memiliki sebaran yang luas diseluruh dunia (Goettel *et al.*, 2010). Jamur bertahan hidup di tanah sebagai miselia saprotropik atau berhubungan dengan tanaman sebagai endofit (Goettel *et al.*, 2005; Behie *et al.*, 2015). *B. bassiana* memiliki tubuh berbentuk benang-benang halus (hifa) yang berwarna putih. Pada konidia *B. bassiana* akan tumbuh suatu tabung yang makin lama makin panjang mirip seuntai benang dan pada suatu waktu benang itu mulai bercabang (Gambar 1). Cabang-cabang yang timbul selalu akan tumbuh menjauhi hifa utama atau hifa yang pertama. Cabang-cabang tersebut akan saling bersentuhan. Pada titik sentuh akan terjadi lisis dinding sel sehingga protoplasma akan mengalir ke semua sel hifa. Miselium yang terbentuk akan makin banyak dan membentuk suatu koloni (Gandjar, 2006). Spora *B. bassiana* dapat berkecambah sebesar 86,5% pada kelembaban relatif 100%. Temperatur yang dibutuhkan yaitu 25°C agar spora berkecambah 80% (Walstad, 1970). Secara rinci karakteristik gambar dan struktur sel jamur *B. bassiana* yaitu :



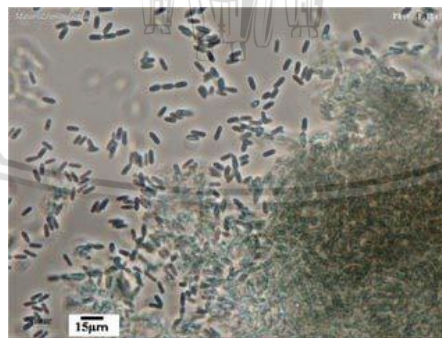
Gambar 2. Kenampakan mikroskopis *B. bassiana* (Walstad, 1970)

c. *Metarhizium anisopliae*

M. anisopliae merupakan jamur yang dikelompokkan ke dalam divisio Amastigomycotina (Tanada dan Kaya, 1993). Jamur ini merupakan jamur tanah bila dalam keadaan saprofit, tetapi memiliki kemampuan sebagai patogen pada

beberapa ordo serangga seperti Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera, Orthoptera, Hemiptera dan Isoptera dan sebanyak 204 isolat *M. anisopliae* berhasil diisolasi dari tanah, Burgner (1998) menemukan bahwa suhu optimum pertumbuhan jamur ini adalah 25°C. Kisaran pH untuk pertumbuhan jamur ini antara 3,3 – 8,5. *M. anisopliae* memiliki kemampuan infeksi yang sangat luas pada berbagai jenis serangga dan sangat penting dalam mengontrol populasi serangga di alam. Penggunaan *M. anisopliae* dilaporkan telah diaplikasikan secara luas di beberapa negara seperti Italia, Kanada, Tazmania, Swiss, dan beberapa negara lainnya (Herdiana, 2011).

Karakteristik gambar dan struktur sel jamur *M. anisopliae* yaitu mempunyai miselium yang bersekat konidia bersel satu berwarna hialin dan berbentuk bulat, konidia berukuran panjang 4-7 µm dan lebar 1,43-3,2 µm. Koloni jamur berwarna putih kemudian berubah menjadi hijau gelap dengan semakin bertambahnya umur (Nuraida, 2007). Secara mikroskopis spora hialin, berbentuk silindris dan membentuk rantai. Hal ini diperjelas oleh Barnett dan Hunter (1989) yang menyatakan spora *M. anisopliae* bersel satu, hialin, dan berbentuk bulat silinder. Temperatur optimum untuk pertumbuhan *M. anisopliae* berkisar 22-27 °C, konidia akan membentuk kecambah pada kelembaban diatas 90%. Patogenisitas akan menurun apabila kelembaban udara dibawah 86% (Prayogo, 2005). Konidia cendawan *M. anisopliae* ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 3. Kenampakan mikroskopis *M. anisopliae* (Gabriel dan Riyanto, 1989)

2.2 Kemampuan Entomopatogen Mengendalikan Patogen

Jamur entomopatogen banyak dimanfaatkan untuk melawan serangga hama karena dapat membunuh serangga secara efisien dan dianggap aman bagi kesehatan lingkungan dan manusia (Garrido-Jurado *et al.*, 2011). Beberapa

entomopatogen telah terbukti mampu mengendalikan penyakit tanaman terutama *B. bassiana* dan *Lecanicillium* spp. Hal ini menunjukkan bahwa entomopatogen memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai pengendali patogen penyebab penyakit tanaman (Ownley *et al.*, 2010). Perlakuan perendaman benih menggunakan isolat *B. bassiana* strain 11-98 telah dilaporkan dapat menekan *dumping-off* sebesar 75% pada 35 hst yang disebabkan oleh patogen *R. solani* pada tanaman tomat (Ownley *et al.*, 2004) dan pembibitan kapas (Griffin, 2007). Perlakuan yang dilakukan sebelum penanaman bibit kapas dengan strain *B. bassiana* yang sama, juga mengurangi keparahan hawar bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas axonopodis* (Griffin *et al.*, 2006). *B. bassiana* dengan strain ATCC 74040 ditemukan secara signifikan mengurangi keparahan penyakit yang disebabkan oleh virus mosaik kuning Zucchini Yellow Mozaik Virus dalam labu (Jaber dan Salem, 2014) dan penyakit bulai yang disebabkan oleh *Plasmopara viticola* dalam anggur (Jaber 2015). Jamur entomopatogen *M. anisopliae* juga dilaporkan dapat mengurangi kejadian penyakit pada tanaman tembakau yang disebabkan patogen *R. solani* (Kern *et al.*, 2010). Isolat *M. anisopliae* menunjukkan antagonisme yang jelas terhadap *F. oxysporum*, *Botrytis cinerea*, *Alternaria solani* (Kang *et al.*, 1996). *Lecanicillium* spp. memicu resistensi terhadap *Pythium ultimum* (Benhamou dan Brodeur, 2001) dan embun tepung *Sphaerotheca fuliginea* (Hirano *et al.* 2008). Selain itu *M. robertsii* memberikan perlindungan terhadap busuk akar kacang yang disebabkan oleh *F. solani* (Sasan dan Bidochka, 2013).

2.3 Mekanisme Entomopatogen Mengendalikan Patogen

Mekanisme entomopatogen melindungi tanaman inangnya terhadap patogen tanaman terbagi menjadi dua yaitu secara langsung mempengaruhi patogen tanaman (misalnya mycoparasitisme, kompetisi, antibiosis melalui produksi metabolit sekunder jamur) sedangkan secara tidak langsung lebih kompleks interaksi antara entomopatogen dengan penyakit tanaman. Patogen dimediasi melalui tanaman inangnya (misalnya induksi ketahanan tanaman sistemik, stimulasi metabolit sekunder tanaman dan promosi pertumbuhan tanaman). Adanya kombinasi mekanisme ini mungkin digunakan oleh entomopatogen endofit terhadap patogen tanaman (Vega *et al.*, 2009; Ownley *et al.*, 2010).

a. Mekanisme Mengendalikan Patogen secara Langsung

Entomopatogen dapat secara langsung menekan patogen tanaman dengan mekanisme mycoparasitisme, kompetisi ruang hidup dan nutrisi, serta memproduksi metabolit sekunder. Mycoparasitisme didefinisikan sebagai keterkaitan antara jamur parasit dan jamur inang (Barnett, 1963; Jeffries, 1995), telah dipelajari beberapa jamur seperti *Trichoderma* (Steyaert *et al.*, 2003; Harmon *et al.*, 2004) dan *Lecanicillium* (Ownley *et al.*, 2010). Mekanisme mycoparasitisme ditandai oleh pembentukan struktur hifa melingkar di sekitar hifa dari jamur inang. Hal ini telah diamati untuk strain endofitik *B. bassiana* dalam uji parasitisme terhadap *P. myriotylum* (Griffin, 2007). Mycoparasitisme juga melibatkan penetrasi dinding sel karena produksi enzim litik yang memecah komponen dinding sel (Askary *et al.*, 1997; Zeilinger *et al.*, 1999), dan pelepasan antibiotik yang menembus hifa hingga berlubang dan mencegah sintesis ulang dinding sel inang (Askary *et al.*, 1997; Lorito *et al.*, 1996) dan pertumbuhan dari sitoplasma hifa pembawa (Inbar *et al.*, 1996). Hingga saat ini, proses mycoparasitisme oleh entomopatogen jamur (*Lecanicillium* spp. dan *Trichoderma* spp.) telah diuji di laboratorium.

Persaingan untuk ruang dan nutrisi cenderung menjadi mekanisme biokontrol terhadap *R. solani* (Ownley *et al.*, 2004; Griffin, 2007) dan *P. viticola* (Jaber, 2015) menggunakan *B. bassiana* yang ada pada tanaman dan diekstraksi endofitik. Kolonisasi tanaman oleh *B. bassiana* dikonfirmasi dapat mengurangi kejadian dan keparahan gejala *downy mildew* sebelum patogen *P. viticola* masuk ke dalam jaringan tanaman inang (Jaber, 2015). Kolonisasi jaringan tanaman oleh jamur endofit melibatkan beberapa langkah termasuk pengenalan inang, spora perkecambahan, penetrasi permukaan tanaman dan kolonisasi jaringan (Petrini, 1991). Jika jamur telah berkolonisasi di dalam jaringan tanaman, jamur menempati sel tanaman dan bergantung pada nutrisi yang disediakan oleh tanaman inangnya. Ketika jamur endofit yang pertama mengkolonisasi tanaman, kemungkinan besar menghabiskan sumber daya inang sehingga patogen tanaman tidak bisa menjajah inang. Akan tetapi ketika patogen mengkolonisasi tanaman sebelum jamur endofit, maka jamur endofit akan menggeser kolonisasi patogen (Adame *et al.*, 2014). Ketika jamur endofit berkolonisasi terlebih dahulu dengan tanaman inang, hal ini memacu tanaman untuk menghasilkan lignin dan dinding sel lainnya sebagai respon pertahanan

mekanis dan ini juga dapat mencegah atau membatasi infeksi oleh patogen tanaman penyebab penyakit (Schulz *et al.*, 2005).

Antibiosis merupakan mekanisme entomopatogen memproduksi metabolit sekunder yang memberi perlindungan terhadap tanaman oleh patogen penyebab penyakit dan serangga hama (Ownley *et al.*, 2010). Entomopatogen adalah sumber yang kaya metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba, insektisida, dan sitotoksik (Gibson *et al.*, 2014). Misalnya, *B. bassiana* menghasilkan banyak metabolit sekunder termasuk beauvericin, bassianin, beauverolides, bassianolides, oosporein, bassianolone (Ownley *et al.*, 2010). Beauvericin berperan sebagai bioaktivitas yang signifikan dan juga dapat diproduksi oleh beberapa jamur entomopatogen, seperti *Paecilomyces*, *Isaria* dan *Fusarium* (Wang dan Xu, 2012). Beauvericin diproduksi oleh *B. bassiana* strain 11-98 (Leckie *et al.* 2008), ketika *B. bassiana* memasuki jaringan tanaman inang, aktivitas ini dapat menekan rebah yang disebabkan oleh *R. solani* dan *P. myriotylum* pada tomat dan kapas (Ownley *et al.*, 2004; Clark *et al.*, 2006; Griffin, 2007; Ownley *et al.*, 2008). Namun, senyawa sekunder jamur masih harus dideteksi di dalam tanaman yang dikolonisasi oleh *B. bassiana*.

b. Induksi Ketahanan Tanaman secara Sistemik

Resistensi sistemik terinduksi (ISR) dapat ditemukan oleh mikroba yang menguntungkan sebagai mekanisme penting yang digunakan oleh tanaman inang untuk meningkatkan pertahanan terhadap serangan patogen tanaman dan serangga hama (Pieterse *et al.*, 2014). Hal ini ditunjukkan pada bibit kapas yang diinokulasi dengan *B. bassiana* strain 11-98 dan pembasahan tanah inokulasi dengan patogen *Xanthomonas* pada bagian daun, kerusakan terjadi 13 hari kemudian. Akar yang diinokulasikan dengan *B. bassiana* secara signifikan mengurangi keparahan penyakit yang terjadi pada daun tanaman dibandingkan dengan kontrol. ISR juga dilaporkan dapat melawan *P. ultimum* (Benhamou dan Brodeur, 2001) dan embun tepung *S. fuliginea* (Hirano *et al.*, 2008) sebagai hasil dari pra-inokulasi akar mentimun dengan *Lecanicillium* spp. Kolonisasi kurma oleh *B. bassiana* dan *Lecanicillium* spp. menghasilkan peningkatan regulasi protein dalam pertahanan tanaman dan respon stres (Gomez-Vidal *et al.*, 2004), sehingga mendorong aktivasi yang lebih cepat dan lebih kuat terhadap patogen, serangga, dan cekaman abiotik (Conrath *et al.*, 2006). Penekanan atau keterlambatan perkembangan gejala juga dianggap sebagai mekanisme ISR terhadap tanaman patogen termasuk virus (Fraser, 1979) dan terbukti dalam

tanaman labu secara bersamaan dijajah oleh beberapa strain *B. bassiana* dan kemudian ditantang dengan ZYMV (Jaber dan Salem, 2014).

c. Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman

Entomopatogen jamur endofit dapat berkontribusi untuk melindungi tanaman inang dari serangan patogen penyebab penyakit melalui peningkatan pertumbuhan tanaman. Kemampuan beberapa entomopatogen jamur untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman setelah pembentukan endofitik (Garcia dkk., 2011; Sasan dan Bidochka, 2012; Liao *et al.*, 2014; Lopez dan Sword, 2015; Jaber dan Enkerli, 2016; Jaber dan Enkerli, 2017). Meningkatnya pertumbuhan tanaman dikarenakan kolonisasi jamur entomopatogen mengubah tekanan abiotik dan biotik dalam tanaman inang termasuk penyakit tanaman (Kuldau dan Bacon, 2008). Ini telah ditunjukkan pada tanaman labu, *B. bassiana* melawan ZYMV, tanaman yang diinokulasikan *B. bassiana* tidak hanya menurunkan kejadian dan keparahan penyakit, tetapi juga berkembang lebih cepat daripada tanaman kontrol yang tidak diinokulasi (Jaber dan Salem, 2014). Hal yang sama telah ditunjukkan ketika tanaman dijajah oleh *M. robertsii* dan terkena *F. Solani*, tanaman yang diinokulasi *M. robertsii* menunjukkan pertumbuhan yang lebih sehat dan indeks penyakit yang lebih rendah dibandingkan dengan tanaman yang tidak dijajah oleh *M. robertsii* (Sasan dan Bidochka, 2013).

Tanaman yang diinokulasikan dengan jamur entomopatogen (*B. bassiana* dan *Lecanicillium* spp.) telah menginduksi protein yang terkait dengan fotosintesis dan metabolisme energi serta pertahanan tanaman dan respons terhadap stres, yang dapat meningkatkan pertumbuhan dan merangsang resistensi penyakit (Gomez-Vidal *et al.*, 2004). Peningkatan pertumbuhan yang dijajah oleh entomopatogen jamur mungkin juga dikaitkan dengan produksi phytohormones atau siderophores (yaitu besi yang dapat disintesis oleh mikroorganisme). Misalnya, *M. anisopliae* telah terbukti menghasilkan produksi phytohormones pada tanaman kedelai yang diinokulasi (Khan *et al.*, 2012), sedangkan *M. robertsii* dan *B. bassiana* telah ditemukan untuk memproduksi siderophores (Krasnoff *et al.*, 2014; Jirakkakul *et al.*, 2015).

3. PROSEDUR PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juni 2018 di Laboratorium Pengendalian Hayati, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan Petri (d= 9 cm), gelas Beker (500 ml), timbangan analitik, botol media (250 ml), tabung Erlenmeyer (250 ml), autoklaf, spatula, jarum Ose, bunsen, stik L, cork Borer, *shaker*, kompor listrik, panci (d= 20 cm), mikroskop, penggaris, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), lemari pendingin, kaca preparat, kaca penutup, mikropipet, *blue tip*, hemositometer, *hand counter* dan alat dokumentasi.

Bahan-bahan yang digunakan adalah isolat jamur BeKBP1, MetMJK1, dan *Rhizoctonia solani* diperoleh dari koleksi PPAH Tani Makmur Desa Kedungringin Kecamatan Beji Kabupaten Pasuruan, benih kedelai Dega 1 yang diperoleh dari Balitkabi Malang, kentang, agar, *dextrose*, klorampenikol, alkohol 70%, formalin 4%, tanah, aquades steril, spirtus, alumunium foil dan plastik *wrapping*.

3.3 Metode Penelitian

Pengujian antagonis secara *in vitro* dan *in vivo* oleh jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae* terhadap pertumbuhan koloni jamur *R. solani* dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 3 perlakuan dan 9 ulangan. Jumlah keseluruhan percobaan berjumlah 27, perlakuannya sebagai berikut:

- K0 = Kontrol
- P1 = Jamur *B. bassiana* 10⁹ dengan *R. solani*
- P2 = Jamur *M. anisopliae* 10⁹ dengan *R. solani*

3.4 Persiapan Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media PDA dan EKD

Proses pembuatan media PDA dilakukan dengan mengupas kentang dan memotongnya dengan ukuran 1 cm², merebus kentang menggunakan aquades steril 1 liter selama 1-2 jam hingga lunak, mengambil ekstrak kentang dan ditampung dalam gelas Beker. Kemudian ditambahkan agar, dekstrosa, dan

kloramfenikol. Setelah semua larut media dituang ke dalam botol media dan ditutup rapat menggunakan alumunium foil dan plastik *wrap*, media disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C tekanan 1 atm selama 30 menit.

Pembuatan media EKD dengan cara merebus 125 gr kentang yang telah dikupas dan dipotong dadu dengan 500 ml aquades hingga mendidih. Setelah mendidih kentang disaring dan diambil sarinya. Kemudian ditambahkan dextrose pada sari kentang sebanyak 10 gr dan kloramfenikol 2 kapsul, diaduk rata dan ditambahkan lagi aquades hingga 500 ml. Media yang sudah jadi dimasukkan kedalam 2 botol enlenmeyer 250 ml setelah itu ditutup rapat menggunakan alumunium foil dan plastik *wrap*, media disterilkan menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 30 menit.

3.4.2 Perbanyak Isolat *Rhizoctonia solani*, *Beauveria bassiana* dan *Metarhizium anisopliae*

Persiapan jamur *B. bassiana* dan *M. anisopliae* meliputi peremajaan dan perbanyak jamur. Peremajaan jamur dilakukan dengan cara mengambil miselium menggunakan jamur ose dan diletakkan kedalam media PDA dan diinkubasi selama 7-10 hari dengan tujuan miselium tumbuh memenuhi cawan petri. Miselium *R. solani* (Gambar Lampiran 1a), *B. bassiana* (Gambar Lampiran 1b), *M. anisopliae* (Gambar Lampiran 1c) yang telah memenuhi permukaan cawan, dilakukan identifikasi makroskopis dan mikroskopis. Perbanyak jamur menggunakan media EKD dan di *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 3 x 24 jam. Menghitung kerapatan konidia dengan mengambil 1 ml suspensi konidia dan dilarutkan kedalam 10 ml aquades steril. Larutan suspensi konidia diambil 0,01 ml menggunakan mikropipet dan dihitung kerapatannya menggunakan *haemocytometer*. Kerapatan konidia dihitung di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x dengan menggunakan rumus Gabriel dan Riyanto (1989) sebagai berikut:

$$C = \frac{t \times d}{(n \times 0,25)} \times 10^6$$

Keterangan :

- C = kerapatan konidia dalam satu ml media (konidia/ml)
- t = jumlah konidia dalam semua kotak bujur sangkar yang dihitung
- d = faktor pengenceran bila harus diencerkan

0,25 = konstanta

n = jumlah kotak yang dihitung (5 kotak besar x 16 kotak kecil)

3.4.3 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan yaitu tanah, yang disterilisasi terlebih dahulu dengan menyemprotkan formalin 4% secara merata untuk mencegah adanya patogen yang tidak diinginkan menyerang tanaman kedelai yang akan ditanam. Tanah diinkubasi selama satu minggu yaitu dengan membungkus rapat tanah yang telah disemprot menggunakan formalin kemudian mengering anginkan selama satu minggu. Tanah yang telah disterilisasi diletakkan pada 540 lubang tray percobaan dikarenakan 1 perlakuan membutuhkan 20 lubang tray.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Antagonis secara *in vitro*

Uji antagonis dilakukan dengan uji ganda (*dual culture*) pada media PDA. Koloni jamur patogen dan antagonis yang telah berumur tujuh hari dipindahkan kedalam cawan uji antagonis. *B. bassiana* dan *M. anisopliae* diinokulasikan pada cawan dengan jarak 3 cm dari koloni cendawan patogen *R. solani* (Gambar 4). Pengamatan dilakukan setiap hari dimulai dari 24 jam setelah inokulasi sampai hari ke- 7 yaitu dengan mengukur jari-jari koloni cendawan patogen yang menjauhi koloni agens antagonis (r1) dan jari-jari koloni cendawan patogen yang mendekati agen antagonis (r2) serta menghitung penghambatan agen antagonis (PP). Persentase penghambatan dihitung berdasarkan teknik yang digunakan dalam Rohana (1998) :

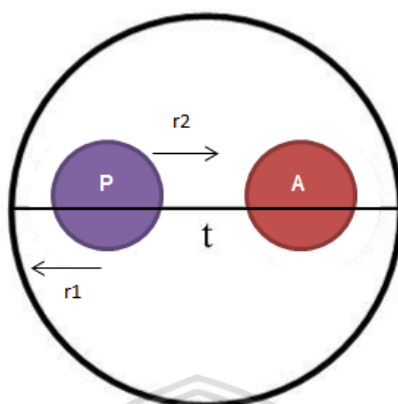
$$PP = \frac{r1-r2}{r1} \times 100\%$$

Keterangan:

PP : Persentase penghambatan

r1 : Jari-jari koloni patogen menuju tepi cawan petri

r2 : Jari-jari koloni patogen menuju koloni antagonis



Gambar 4. Metode dual culture dalam satu cawan uji antagonis berdiameter 9 cm

Keterangan :

P : Patogen

A : Antagonis

r1 : Jari-jari koloni patogen menuju tepi cawan petri

r2 : Jari-jari koloni patogen menuju koloni antagonis

t : Jarak antara koloni patogen dan antagonis

3.5.2 Uji Antagonis pada Tanaman Kedelai secara *in vivo*

Benih kedelai yang digunakan adalah benih kedelai varietas Dega 1 yang diperoleh dari Balitkabi Malang. Benih yang digunakan harus sehat, tidak bercacat, dan dalam keadaan kering. Benih terlebih dahulu direndam dalam suspensi *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dengan kerapatan konidia jamur sebesar 10^9 konidia/ml, sedangkan benih perlakuan kontrol direndam menggunakan akuades steril selama 1x 8 jam. Benih yang telah direndam kemudian ditanam pada 540 tray percobaan, setiap 1 perlakuan terdapat 20 lubang tray. Pada saat tanaman berumur 5 hst dilakukan pembasahan tanah menggunakan suspensi *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dengan kerapatan konidia jamur sebesar 10^9 konidia/ml.

Aplikasi patogen tanaman *R. solani* pada media tanam dilakukan pada 7 hst. Isolat *R. solani* diremajakan pada media buatan. Kemudian disamping pangkal bibit kedelai yang telah tumbuh diberi lubang kecil dengan kedalaman ± 2 cm atau sampai mendekati perakaran bibit kedelai. Miselium *R. solani* yang

telah diremajakan diambil secara langsung yang sebelumnya sudah dibentuk menggunakan *cork borer*, setelah itu diletakkan pada lubang yang telah dibuat disamping pangkal bibit kedelai.

Pengamatan kejadian penyakit dilakukan mulai dari patogen diinokulasikan ke tanaman hingga pertama kali menimbulkan gejalanya. Persentase kejadian penyakit dihitung dengan rumus sebagai berikut (Deptan, 2008):

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

Keterangan:

KP : Persentase kejadian penyakit

n : Jumlah tanaman yang terserang jamur *R. solani*

N : Jumlah keseluruhan tanaman termasuk yang terserang dan tidak terserang jamur *R. solani*

3.5.3 Efektifitas Jamur Entomopatogen

Efektivitas jamur entomopatogen dalam menekan serangan penyakit *R. solani* dapat diketahui dengan menghitung persentase intensitas serangan penyakit mutlak dengan rumus (Deptan, 2008):

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

Keterangan :

I = Intensitas serangan (%)

a = Jumlah tanaman pada perlakuan yang terserang penyakit rebah

b = Jumlah tanaman pada perlakuan yang tidak terserang penyakit rebah

Setelah diketahui persentase serangan penyakit *R. solani* terdapat beberapa kategori yaitu:

- Serangan ringan bila tingkat serangan 11%
- Serangan sedang bila tingkat serangan 12- 25%
- Serangan berat bila tingkat serangan 25-75%
- Mengalami puso bila tingkat serangan 76-100%

3.6 Analisis Data

Data hasil pengamatan persentase penghambatan dan kejadian penyakit dianalisis dengan analisis sidik ragam. Apabila hasil analisis sidik ragam menunjukkan perlakuan berbeda nyata, maka dilakukan uji lanjutan menggunakan uji BNT dengan taraf kesalahan 5%. Program yang digunakan untuk analisis sidik ragam dan uji lanjutan BNT adalah DSAASTAT ver. 1.101.



4. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur *R. solani* secara *in vitro*

Persentase penghambatan pertumbuhan jamur *R. solani* oleh *B. bassiana* dan *M. anisopliae* selama 7 hsi (Tabel 1). Perlakuan isolat *B. bassiana* dan *M. anisopliae* berpengaruh tidak nyata antar perlakuan terhadap persentase penghambatan *R. solani* $P > 0,05$ tidak berbeda nyata (Tabel Lampiran 1). Data persentase penghambatan tersebut didapatkan dari data pengamatan selama 7 hari, karena dalam waktu 7 hari diameter jamur pada kedua perlakuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* sudah memenuhi cawan petri.

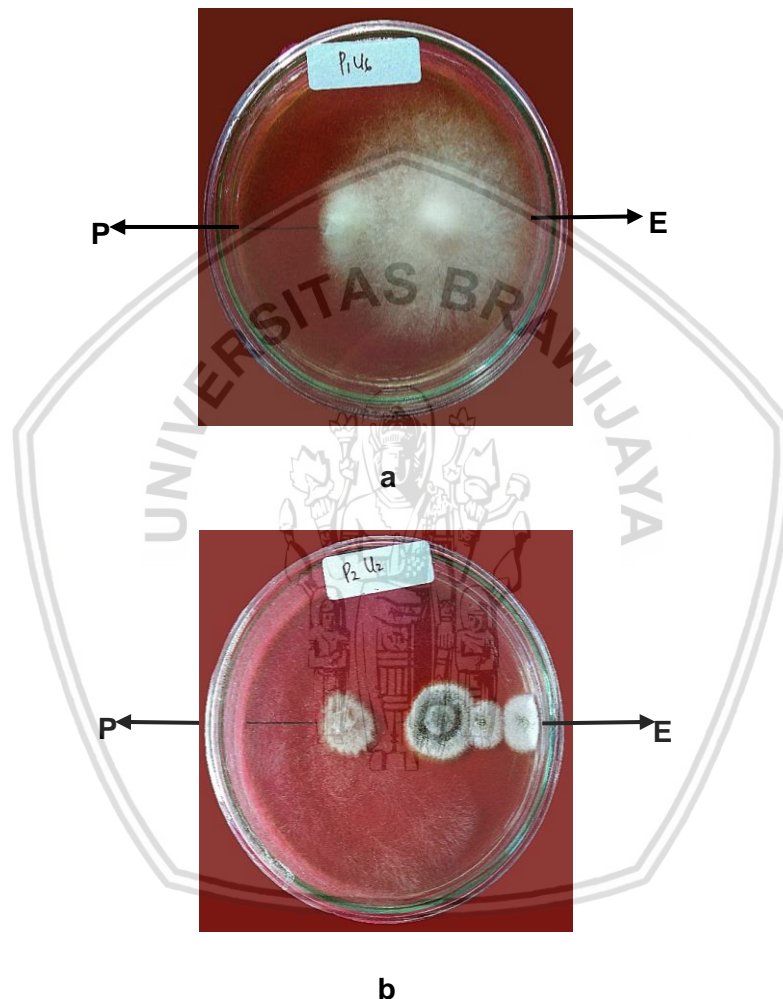
Tabel 1. Persentase penghambatan jamur entomopatogen terhadap jamur *R. solani* secara *in vitro*

Perlakuan	Persentase penghambatan/hsi- (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
<i>B. bassiana</i>	0	61,87	27,11	34,76	61,01	68,22	69,72
<i>M. anisopliae</i>	0	69,27	28,85	20,34	32,97	49,37	52,12

Keterangan: Data ditransformasi ke Arc Sin $\sqrt{x} + 0,5$ untuk keperluan analisis statistik

Berdasarkan hasil penelitian, perlakuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* dapat menghambat pertumbuhan koloni *R. solani* (Gambar 5). Hal tersebut nampaknya disebabkan oleh adanya mekanisme antagonis yang ditimbulkan oleh kedua isolat termasuk mekanisme kompetisi untuk memperebutkan ruang dan nutrisi serta mekanisme antibiosis yaitu mengeluarkan senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan sehingga menghambat kemampuan tumbuh *R. solani*. Penghambatan oleh *B. bassiana* menunjukkan adanya mekanisme kompetisi, hal ini dibuktikan dengan adanya pertumbuhan koloni *B. bassiana* yang lebih besar dan menutupi pertumbuhan koloni *R. solani* (Gambar 5b). Persaingan untuk ruang dan nutrisi cenderung menjadi mekanisme biokontrol *B. bassiana* terhadap *R. solani* (Ownley *et al.*, 2004; Griffin, 2007). Selain mekanisme kompetisi *B. bassiana* juga mampu mengeluarkan senyawa metabolit seperti oosporein dan beauvericin sehingga mampu menghambat pertumbuhan miselium patogen (Ownley *et al.*, 2010). Beauvericin termasuk asam amino yang larut dalam lemak dan bersifat mengikat ion pada lapisan membran sel. Menurut Boucias dan Pendland (1998) toksin ini dapat larut dalam molekul pembentuk membran sel sehingga meningkatkan permeabilitasnya, karena transportasi ion yang

berlebihan dapat mengganggu fungsi sel. Persentase penghambatan oleh *B. bassiana* menunjukkan sebesar 69,72% pada 7 hsi. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian Lozano-Tovar *et al.* (2013) penghambatan oleh *B. bassiana* rata-rata sebesar 100% pada 7 hsi. Perbedaan daya hambat ini dikarenakan masing-masing isolat memiliki kemampuan dan mekanisme hambat yang berbeda-beda satu sama lain. Menurut Papuangan (2009) setiap isolat mengeluarkan senyawa dengan konsentrasi dan kualitas yang berbeda-beda.



Gambar 5. Hasil uji antagonis di media PDA pada 7 hsi *R. solani* dengan :
a. *B. bassiana* b. *M. anisopliae*. P (Patogen), E (Entomopatogen).

Penghambatan oleh *M. anisopliae* menunjukkan adanya mekanisme antibiosis, dikarenakan terbentuknya zona bening antara koloni *M. anisopliae* dengan *R. solani* (Gambar 5c). Zona bening terbentuk karena adanya metabolit sekunder yang dikeluarkan oleh *M. anisopliae* sehingga koloni jamur *R. solani* tidak bisa tumbuh dengan bebas. Senyawa metabolit yang dihasilkan oleh *M. anisopliae* berupa destruxins, serinocyclins dan cytochalasins (Roberts dan St Leger, 2004; Krasnoff *et al.*, 2007). Dextrusin adalah senyawa antijamur yang

membantu untuk menghindari persaingan dengan mikroorganisme penyebab penyakit (Sbaraini *et al.*, 2016). Persentase penghambatan oleh *M. anisopliae* mampu menghambat sebesar 52,12% pada 7 hsi. Hasil penelitian ini sesuai dengan Sasan dan Bidochka (2013) jamur entomopatogen *M. anisopliae* membentuk zona bening saat dilakukan uji penghambatan dengan *F. oxysporum*, *F. solani* dan mampu menghambat sebesar 59,4%.

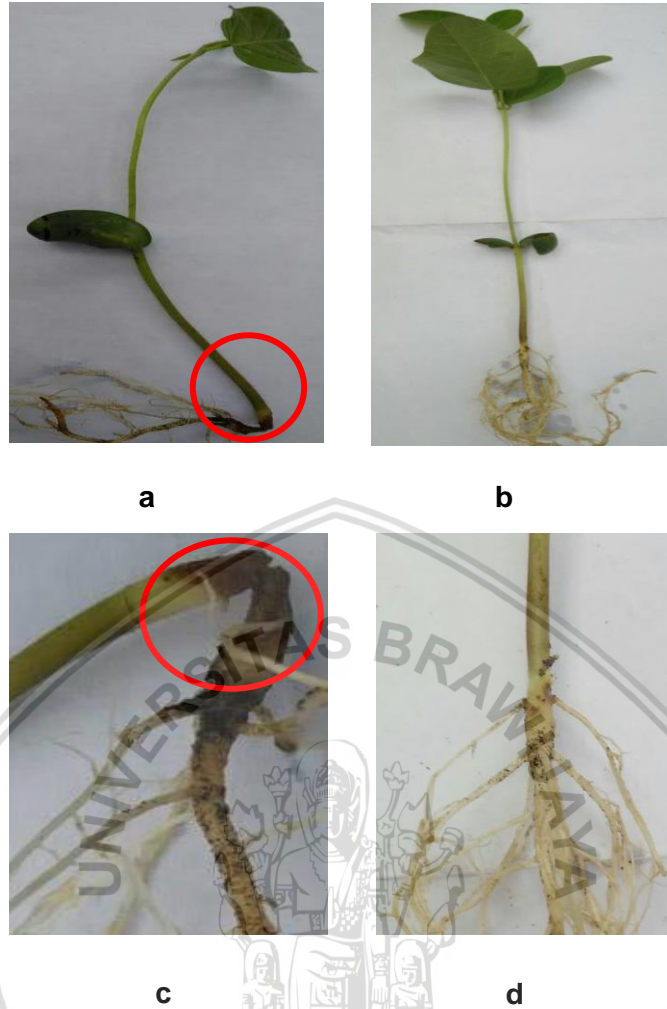
4.2 Persentase Kejadian Penyakit Rebah Kecambah secara *in vivo*

Kejadian penyakit pada perlakuan isolat *B. bassiana* dan *M. anisopliae* lebih rendah dibandingkan persentase kejadian penyakit pada kontrol (Tabel 2). Persentase antara *B. bassiana* dan *M. anisopliae* hampir sama dalam menekan kejadian penyakit rebah kedelai. Data persentase kejadian penyakit didapatkan dari pengamatan selama 7 hari.

Tabel 2. Persentase kejadian penyakit rebah kecambah secara *in vivo*

Perlakuan	Persentase kejadian penyakit 7 hsi- (%)
Kontrol	7,59%
<i>B. bassiana</i>	2,40%
<i>M. anisopliae</i>	2,96%

Hasil uji antagonis yang dilakukan secara *in vivo* untuk mengetahui persentase kejadian penyakit rebah kecambah kedelai. Gejala serangan jamur *R. solani* pada tanaman kedelai muncul pada hari ke 3 setelah inokulasi jamur patogen. Gejala penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *R. solani* terlihat pada (Gambar 6a, 6c). Bibit tanaman kedelai yang mengalami rebah pada pangkal batangnya berwarna coklat sedangkan pada bibit kedelai yang sehat tidak terdapat bercak berwarna coklat pada pangkal batangnya (Gambar 6b, 6d). Menurut Wharton *et al.* (2007) gejala-gejala penyakit yang disebabkan oleh *R. solani* yaitu berwarna coklat pada pangkal batang yang bersentuhan langsung dengan tanah yang menyebabkan tanaman rebah.



Gambar 6. Bibit tanaman kedelai 7-hsi: a. Terserang *R. solani*, b. Sehat, c. Pangkal batang yang terserang *R. solani*, d. Pangkal batang yang sehat

Serangan penyakit rebah pada kedelai yang disebabkan *R. solani* terjadi pada awal fase vegetatif tanaman. Pengamatan serangan jamur *R. solani* pada tanaman kedelai dilakukan selama 7 hari setelah inokulasi. Kejadian penyakit pada kontrol menunjukkan persentase yang lebih besar daripada kejadian penyakit pada perlakuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae*. Hal ini dikarenakan pada tanah kontrol hanya diinokulasikan patogen *R. solani*, sehingga keadaan tersebut mendorong patogen aktif menyerang tanaman kedelai. Keadaan tersebut sesuai Sasan dan Bidochka (2013) bahwa tanah yang hanya diaplikasikan patogen *F. solani* tanpa perlakuan apapun kejadian penyakitnya lebih besar daripada yang diinokulasikan antara *F. solani* dan *M. robertsii*.

Aplikasi menggunakan isolat *B. bassiana* pada bibit tanaman kedelai mengalami kejadian penyakit sebesar 2,40% pada 7 hsi. Hal ini sesuai dengan penelitian Ownley *et al.* (2004) bahwa tanaman tomat yang diinokulasikan menggunakan isolat *B. bassiana* total kejadian penyakitnya sebesar 3,3% pada 7 hsi. Kejadian penyakit yang lebih kecil daripada kontrol dikarenakan *B. bassiana* menginduksi tanaman untuk memproduksi senyawa fenolik yang membentuk reaksi pertahanan terpenting tanaman terhadap patogen. Ketika senyawa fenolik dilepaskan dengan cepat maka secara efektif mencegah penetrasi patogen, akan tetapi jika senyawa fenolik dilepaskan secara lambat hal ini dapat menyebabkan penyebaran penyakit dan perkembangan gejala yang cepat (Azadi *et al.*, 2016). Hal ini juga didukung oleh Madhavan *et al.* (2011) peningkatan ketahanan tanaman dikaitkan dengan peningkatan senyawa fenolik. Stimulasi pertumbuhan tanaman oleh agen antagonis memainkan peran penting dalam perlindungan tanaman terhadap penyakit akar. Dengan menstimulasi pertumbuhan tanaman, akar yang terinfeksi diganti dengan cepat oleh akar baru. Hasilnya menyebabkan bibit terhindar dari tahap yang rentan dan pengurangan kerusakan oleh penyakit. Menurut Harman *et al.* (2004) keberadaan aktivitas stimulasi pertumbuhan oleh jamur entomopatogen mirip dengan aktivitas pertumbuhan tanaman yang diberikan perlakuan rhizobacteria. Sedangkan menurut Ownley *et al.* (2010) *B. bassiana* adalah salah satu contoh jamur yang menginduksi resistensi pada tanaman.

Sedangkan aplikasi menggunakan isolat *M. anisopliae* pada bibit tanaman kedelai mengalami kejadian penyakit sebesar 2,96% pada 7 hsi. Hal ini sesuai dengan penelitian Sasan dan Bidochka (2013) bahwa aplikasi menggunakan jamur *M. robertsii* pada tanaman kacang mampu mengalami kejadian penyakit rebah yang disebabkan oleh *F. solani* sebesar 2,31% pada 10 hsi. Kejadian penyakit yang lebih kecil daripada kontrol dikarenakan *M. anisopliae* meningkatkan pertumbuhan tanaman, selain itu juga dikaitkan dengan produksi fitohormon yang dapat disintesis oleh mikroorganisme. Menurut Khan *et al.* (2012) *M. anisopliae* telah terbukti menghasilkan produksi fitohormon pada tanaman kedelai yang diinokulasi jamur ini. Sehingga *M. anisopliae* mampu mengendalikan patogen karena ada aktivitas stimulasi pertumbuhan tanaman.

4.3 Efektifitas Jamur Entomopatogen Mengendalikan *R. solani*

Perhitungan efektifitas dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu jamur entomopatogen dalam mengendalikan serangan penyakit rebah kecambah kedelai. Efektivitas entomopatogen *B.bassiana* dan *M. anisopliae* mengendalikan penyakit *R. solani* dapat diketahui setelah menghitung intensitas serangan penyakit. Intensitas serangan penyakit rebah kecambah kedelai (Tabel 3). Data persentase intensitas serangan penyakit didapatkan dari pengamatan selama 7 hari.

Tabel 3. Rerata Persentase Serangan Penyakit Rebah Kecambah Tanaman Kedelai

Perlakuan	Persentase serangan penyakit rebah kecambah kedelai hsi- (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
Kontrol	0	0	1,88 a	3,87 a	17,43 a	21,94 a	28,16 a
<i>B. bassiana</i>	0	0	0,5 a	0,5 a	1,88 b	5,86 b	12,26 b
<i>M. anisopliae</i>	0	0	0,5 a	0,5 a	3,87 b	6,96 b	14,13 b

Keterangan: Data ditransformasi ke Arc Sin $\sqrt{x} + 0,5$ untuk keperluan analisis statistik. Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji BNT pada taraf kesalahan 5%

Berdasarkan hasil rerata persentase serangan penyakit pada hari pertama dan kedua setelah inokulasi belum menunjukkan adanya aktivitas patogen menyerang tanaman kedelai. Pada 3 dan 4 hsi persentase serangan penyakit pada tanaman kontrol mengalami kenaikan sedangkan pada perlakuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae* persentase serangan oleh *R. solani* masih sama. Pada 5-7 hsi persentase serangan penyakit pada tanaman kontrol dan tanaman perlakuan mengalami kenaikan. Hal ini seiring dengan laju serangan antara tanaman kontrol dan tanaman perlakuan yang sama. Pada hari terakhir pengamatan (7hsi) persentase serangan pada tanaman kontrol mencapai 28,16%, pada tanaman perlakuan *B. bassiana* mencapai 12,09%, sedangkan pada tanaman perlakuan *M. anisopliae* mencapai 13,96%. Persentase intensitas serangan dikorelasikan dengan tingkat serangan penyakit, sehingga didapatkan bahwa serangan pada tanaman kontrol termasuk kategori serangan berat sedangkan pada tanaman dengan perlakuan *B. bassiana* dan *M. anisopliae*

termasuk kategori serangan sedang pada 7 hsi. Menurut Deptan (2008) persentase serangan penyakit sebesar 11% termasuk kategori serangan yang rendah. Meskipun pada tanaman perlakuan termasuk kategori serangan yang sedang, akan tetapi laju serangan penyakit pada tanaman kontrol dan tanaman perlakuan adalah sama. Artinya efektifitas perlakuan jamur entomopatogen *B. bassiana* dan *M. anisopliae* hanya mampu menunda serangan penyakit rebah kedelai yang disebabkan oleh *R. solani*. Hal ini dibuktikan dengan adanya kenaikan intensitas serangan penyakit dari hari 5-7 hsi.



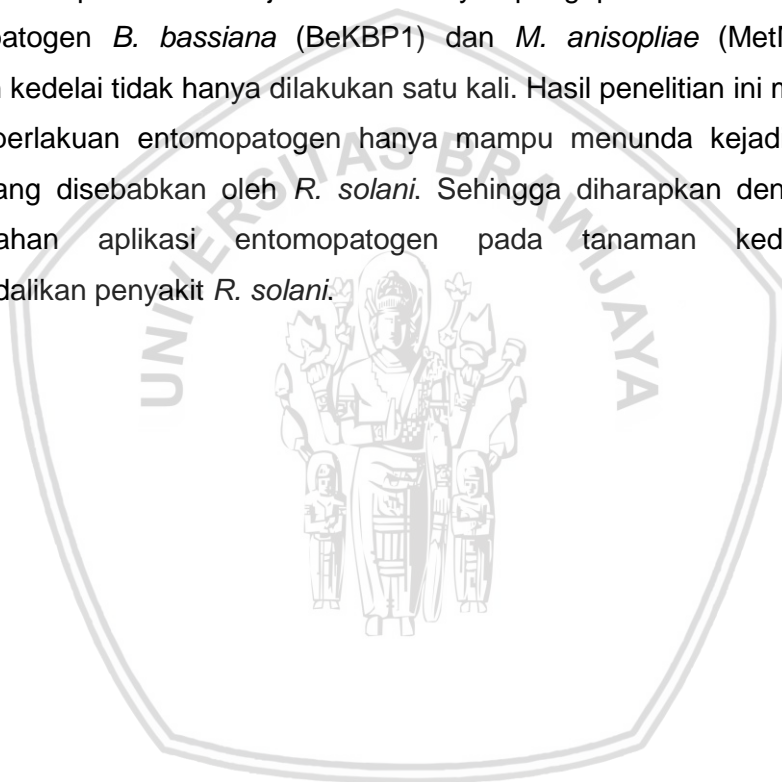
5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaplikasian 1 kali isolat *B. bassiana* (BeKBP1) dan *M. anisopliae* (MetMJK1) menghasilkan potensi yang sama sebagai agens hayati pengendali *R. solani* baik secara *in vitro* dan *in vivo*.

5.2 Saran

Pada penelitian lanjutan sebaiknya pengaplikasian suspensi isolat entomopatogen *B. bassiana* (BeKBP1) dan *M. anisopliae* (MetMJK1) pada tanaman kedelai tidak hanya dilakukan satu kali. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan entomopatogen hanya mampu menunda kejadian penyakit rebah yang disebabkan oleh *R. solani*. Sehingga diharapkan dengan adanya penambahan aplikasi entomopatogen pada tanaman kedelai efektif mengendalikan penyakit *R. solani*.



DAFTAR PUSTAKA

- Adame, R.M.A., Mendiola, J.S, Heil, M. 2014. Order of Arrival Shifts Endophyte-Pathogen Interactions in Bean From Resistance Induction to Disease Facilitation. J. FEMS Microbiol Lett. 355: 100–107.
- Anees. M., Edel-Hermann, V., Steinberg, C. 2010. Build up of Patches Caused by *Rhizoctonia solani*. Soil Biol. Biochem. 44: 1661-1672.
- Askary, H., Benhamou, N., Brodeur, J. 1997. Ultrastructural and Cytochemical Investigations of The Antagonistic Effect of *Verticillium lecanii* on Cucumber Powdery Mildew. J. Phytopathology. 87: 359–368.
- Azadi, N., Shirzad, A., Mohammadi, H. 2016. A Study of Some Biocontrol Mechanisms of *Beauveria bassiana* Against *Rhizoctonia* Disease on Tomato. J. Acta Biologica Szegediensis. 60(2): 119-127.
- Barnett dan Hunter, B. B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. (Ed.4) Minnesota: APS Press.
- Barnett, H.L. 1963. The Nature of Mycoparasitism by Fungi. Adv. Annu Rev Microbiol 17: 1–44.
- Behie, S.W., Jones, S.J., Bidochka, M.J. 2015. Plant Tissue Localization of The Endophytic Insect Pathogenic Fungi *Metarhizium* and *Beauveria*. Fungal Ecol. 13: 112–119.
- Benhamou, N., dan Brodeur, J. 2001. Pre-inoculation of 625 Ri T-DNA Transformed Cucumber Roots with The Mycoparasite, *Verticillium lecanii*, Induces Host Defense Reactions Against *Pythium ultimum* Infection. J. Physiol Mol Plant Pathol: 58: 133–146.
- Boucias, D.G., dan Pendland, J.C. 1998. Principles of Insect Pathology. Boston. Kluwer Academic Publishers.
- Butler, E.E. dan C. Bracker. 1970. Morphology and Cytology of *Rhizoctonia solani* (ed) *Rhizoctonia solani*: Biology and Pathology. California University Berkeley. 32-44.
- Clark, M.M., 2006. Biological Control Methods for Damping-off of Tomato Seedlings Caused by *Pythium myriotylum*. M.S. Thesis. The University of Tennessee, Knoxville.
- Conrath, U., Beckers, G.J.M., Flors, B., Garcia, P.A., Jakab, G., Mauch, F., Newman, M.A., Pieterse, C.M.J., Poinssot, B., Pozo, M.J., Pugin, A., Schaffrath, J.T., Wendehenne, D., Zimmerli, L., Mauch-Mani, B. 2006. Priming: Getting Ready for Battle. J. Mol Plant Microbe Interact. 19: 1062–1071.
- Departemen Pertanian. 2008. Buku Pedoman Pelaporan Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan. Jakarta.

- Dunlap, C.A., Lueschow, S., Carrillo, D., Rooney, A.P. 2016. Screening of Bacteria for Antagonistic Activity Against Phytopathogens of Avocados. *Adv. Plant Gene.* 70: 1-6.
- Ewekeye TS, Oke, O.A., Seriki, O.B., Bello, A.T. 2013. In-vitro Biocontrol of Fungi Associated with Leaf Diseases of Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) Using *Trichoderma* species. *J. Nat. Sci.* 11:124-128.
- Flori, P., Roberti, R., 1993. Treatment of Onion Bulbs with Antagonistic Fungi for The Control of *Fusarium oxysporum* f sp. cepae. *Difesa delle Piante.* 16: 5–12.
- Fraser, R.S.S. 1979. Systemic Consequences of The Local Lesion Reaction to Tobacco Mosaic Virus in a Tobacco Variety Lacking the N Gene for Hypersensitivity. *J. Physiol Plant Pathol.* 14: 383–394.
- Gabriel, B.P., dan Riyanto. 1989. *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor: Taksonomi, Patologi, Produksi dan Aplikasinya. Jakarta: Direktorat Perlindungan Tanaman Perkebunan, Departemen Pertanian.
- Gandjar, I. 2006. Mikologi Dasar dan Terapan. (Ed.1). Yayasan Obor Indonesia. Jakarta.
- Garrido-Jurado, I., Ruano, F., Campos, M., Quesada-Moraga, E., 2011. Effects of Soil Treatments with Entomopathogenic Fungi on Soil Dwelling non-target Arthropods at a Commercial Olive Orchard. *J. Biol. Control* 59: 239-244.
- Gibson, D.M., Donzelli, B.G., Krasnoff, S.B., Keyhani, N.O. 2014. Discovering The Secondary Metabolite Potential Encoded within Entomopathogenic Fungi. *J. Nat Prod Rep.* 31: 1287–1305.
- Goettel, M.S., Eilenberg J., Glare T.R. 2010. Entomopathogenic fungi and Their Role in The Regulation of Insects, in: Gilbert, L.I., Gill, S.S. (Eds.). *Insect Control: Biological and Synthetic Agents.* Academic Press. San Diego USA. 387-432.
- Goettel, M.S., Eilenberg, J., Glare, T.R. 2005. Entomopathogenic Fungi and Their Role in Regulation of Insect Populations, in: Gilbert, L.I., Latrou, K., Gill, S. (Eds.). *Comprehensive Molecular Insect Science.* Elsevier. Amsterdam. 361–405
- Gomez, E., Alvarez, R., Fraga, R., Reyes, I., Hernandez, J., Lemes, T. 2004. Metabolites Produced by The Entomopathogenic Fungus *Verticillium lecanii*. *J. Biotechnol. Apl.* 21: 92–95.
- Griffin, M.R. 2007. *Beauveria bassiana*, a Cotton Endophyte with Biocontrol Activity Against Seedling Disease. Dissertation. The University of Tennessee, Knoxville, TN, USA.
- Griffin, M.R., Ownley, B.H., Klingeman, W.E., Pereira, R.M. 2006. Evidence of Induced Systemic Resistance with *Beauveria bassiana* against *Xanthomonas* in Cotton. *J. Phytopathology.* 96: 1-7.

- Grosch, R., Scherwinski, K., Lottmann J., Berg, G. 2006. Fungal Antagonists of The Plant Pathogen *Rhizoctonia solani*: Selection, Control Efficacy and Influence on The Indigenous Microbial Community. *J. Mycol Res.* 110: 1464-1474.
- Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., Lorito, M. 2004. *Trichoderma* Species - Opportunistic, A Virulent Plant Symbionts. *J. Nat. Rev. Microbiol.* 2: 43-56.
- Herdiana, B.G. 2011. Pembuatan dan Pengujian Formula *Metarhizium majus* UICC 295 dengan Media Pembawa Substrat Beras (*Oryza sativa*) terhadap Larva *Oryctes rhinoceros*. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Indonesia, Depok.
- Hirano, E., Koike, M., Aiuchi, D., Tani, M. 2008. Pre-inoculation of Cucumber Roots with *Verticillium lecanii* (*Lecanicillium muscarium*) Induces Resistance to Powdery Mildew. *J. Res Bull.* 29: 82–94.
- Inbar, J., Menendez, A., Chet, I. 1996. Hyphal Interaction Between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its Role in Biological Control. *J. Soil Biol Biochem.* 28: 757–763.
- Jaber, L.R. 2015. Grapevine Leaf Tissue Colonization by The Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* and its Effect Against Downy Mildew. *J. Bio. Control.* 60: 103–112.
- Jaber, L.R., Enkerli, J. 2016. Effect of Seed Treatment Duration on Growth and Colonization of *Vicia faba* by Endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *J. Biol Control.* 103: 187–195.
- Jaber, L.R., Enkerli, J. 2017. Fungal Entomopathogens as Endophytes: Can They Promote Plant Growth. *J. Biocontrol Sci Technol.* 27: 28-41.
- Jaber, L.R., Salem, N.M. 2014. Endophytic Colonisation of Squash by The Fungal Entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) for Managing Zucchini Yellow Mosaic Virus in Cucurbits. *J. Biocontrol Sci Technol.* 24: 1096–1109.
- Jeffries, P. 1995. Biology and Ecology of Mycoparasitism. *J. Can Bot.* 73: 1284–90.
- Jirakkakul, J., Cheevadhanarak, S., Punya, J., Chutrakul, C., Senachak, J., Buajareern, T., Tanticharoen, M., Amnuaykanjanasin, A. 2015. Tenellin Acts as an Iron Chelator to Prevent Iron Generated Reactive Oxygen Species Toxicity in The Entomopathogenic Fungus *Beauveria bassiana*. *J. FEMS Microbiol Lett.* 362: 1–8
- Kang, C.S., Goo, B.Y., Gyu, L.D., Heon, K.Y. 1996. Antifungal Activities of *Metarhizium anisopliae* against *Fusarium oxysporum*, *Botrytis cinerea* and *Alteraria solani*. *Korean J. Mycol.* 24: 49-55.
- Kern, M.F., Maraschin, S.F., Endt, D.V., Schrank, A., Vainstein, M.H., Pasquali, G. 2010. Expression of a Chitinase Gene from *Metarhizium anisopliae* in

- Tobacco Plants Confers Resistance against *Rhizoctonia solani*. J. Appl Biochem Biotechnol. 160:1933–1946.
- Khan, A.L., Hamayun, M., Khan, S.A., Kang, S.M., Shinwari, Z.K., Kamran, M., Ur Rehman, S., Kim, J.G., Lee, I.J. 2012. Pure Culture of *Metarhizium anisopliae* LHL07 Reprograms Soybean to Higher Growth and Mitigates Salt Stress. J. Microb Biotech. 28: 1483–1494.
- Krasnoff, S.B., Keresztes, I., Gillilan, R.E., Szebenyi, D.M.E., Donzelli, B.G.G., Churchill, A.C.L., Gibson, D.M. 2007. Serinocyclins A and B, Cyclic Heptapeptides from *Metarhizium anisopliae*. J. Nat. Prod. 70: 1919–1924.
- Kuldau, G., Bacon, C. 2008. Clavicipitaceous Endophytes: Their Ability to Enhance Resistance of Grasses to Multiple Stresses. J. Biol Control. 46: 57–71.
- Leckie, B.M., Ownley, B.H., Pereira, R.M., Klingeman, W.E., Jones, C.J., Gwinn, K.D. 2008. Mycelia and Spent Fermentation Broth of *Beauveria bassiana* Incorporated into Synthetic Diets Affect Mortality, Growth and Development of Larval *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Biocontrol Sci Technol. 18: 697–710.
- Liao, X, O'Brien, T.R., Fang, W, St. Leger, R.J. 2014. The Plant Beneficial Effects of *Metarhizium* Species Correlate with Their Association with Roots. J. Appl Microbi Biotech. 98 (70) : 89–96.
- Lopez, D.C., dan Sword, G.A. 2015. The Endophytic Fungal Entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* Enhance The Growth of Cultivated Cotton (*Gossypium hirsutum*) and Negatively Affect Survival of The Cotton Bollworm (*Helicoverpa zea*). J. Biol Control. 89: 53–60.
- Lorito, M., Farkas, V., Rebuffat, S., Bodo, B., Kubicek, C.P. 1996. Cell Wall Synthesis is a Major Target of Mycoparasitic Antagonism by *Trichoderma harzianum*. J. Bacteriol. 178: 6382–6385.
- Lozano-Tovar, M.D., Garrido-Jurado, I., Quesada-Moraga, E., Raya-Ortega, M.C., Trapero-Casas, A. 2017. *Metarhizium brunneum* and *Beauveria bassiana* Release Secondary Metabolites with Antagonistic Activity Against *Verticillium dahliae* and *Phytophthora megasperma* Olive Pathogens. J. Crop Protection. 100: 186-195.
- Lozano-Tovar, M.D., Ortiz- Urquiza, A., Garrido-Jurado, I., Trapero-Casas, A., Quesada-Moraga, E. 2013. Assessment of Entomopathogenic Fungi and Their Extracts Against a Soil-dwelling Pest and Soil-borne Pathogens of Olive. J. Biol. Control. 67: 409-420.
- Madhavan S, Paranidharan V, Velazhahan R. 2011. Foliar Application of *Burkholderia* sp. strain TNAU-1 Leads to Activation of Defense Responses in Chilli (*Capsicum annum* L.). J. Plant Physiol. 23: 261-266.
- Nuraida. 2007. Isolasi, Identifikasi, dan Karakterisasi Jamur Entomopatogen dari Rizosfir Pertanaman Kubis. Skripsi. Fakultas Pertanian. Universitas Al-Azhar. Medan.

- Ownley, B.H., Griffin, M.R., Klingeman, W.E., Gwinn, K.D., Moulton, J.K., Pereira, R.M. 2008. *Beauveria bassiana*: Endophytic Colonization and Plant Disease Control. *J. Invertebrate Pathology*. 98: 267–270.
- Ownley, B.H., Gwinn, K.D., Vega, F.E. 2010. Endophytic Fungal Entomopathogens with Activity Against Plant Pathogens: Ecology and Evolution. *J. Bio. Control*. 55: 113–128.
- Ownley, B.H., Pereira, R.M., Klingeman, W.E., Quigley, N.B., Leckie, B.M., 2004. *Beauveria bassiana*, A Dual Purpose Biocontrol Organism, with Activity Against Insect Pest and Plant Pathogens. In: Lartey, R.T., Caesar, A.J. (Eds.), *Emerging Concepts in Plant Health Management*. Research Signpost Kerala, India. 256–269.
- Papuangan, N. 2009. Aktivitas Penghambatan Senyawa Antimikrob *Streptomyces* spp. Terhadap Mikroba Patogen Tular Tanah secara In Vitro dan In Planta. *Tesis*. IPB. Bogor.
- Paulitz, T.C., Smiley, R., Cook, R.J. 2002. Insights into The Prevalence and Management of Soilborne Cereal Pathogens Under Direct Seeding in The Pacific Northwest. *J. Plant Pathol*. 24: 416-428.
- Petrini, O. 1991. *Fungal Endophytes in Tree Leaves*. New York. Microbial Ecology.
- Pieterse, C.M., Zamioudis, C., Berendsen, R.L., Weller, D.M., Van, S.C.W., Bakker, P.A. 2014. Induced Systemic Resistance by Beneficial Microbes. *Adv. Ann Rev Phytopathol*. 52: 347–375.
- Prayogo, Y. 2005. Prospek Cendawan Entomopatogen *Metarhizium anisopliae* untuk Mengendalikan Ulat Grayak *Spodoptera litura* pada Kedelai. Balai Penelitian tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang.
- Renwick, A., Campbell, R., Coe, S. 1991. Assessment of In Vivo Screening Systems for Potential Biocontrol Agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathol*. 40: 524– 532.
- Roberts, D., dan ST. Leger, R.J. 2004. *Metarhizium* spp., Cosmopolitan Insect-Pathogenic Fungi: Mycological Aspects. In A.I. Laskin, J.W. Bennet and G.M. Gadd (Eds.). *Adv. Appl Micro*. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 1–70.
- Sasan, R.K., dan Bidochka, M.J. 2013. Antagonism of The Endophytic Insect Pathogenic Fungus *Metarhizium robertsii* Against The Bean Plant Pathogen *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. *J. Plant Pathol*. 35(3): 288–293.
- Sbaraini, N., Guedes, R.L.M., Andreis, F.C., Junges, A., de Moraes, G.L., Vainstein, M.H., de Vasconcelos, A.T.R., Schrank, A. 2016. Secondary Metabolite Gene Clusters in the Entomopathogen Fungus *Metarhizium anisopliae*: Genome Identification and Patterns of Expression in a Cuticle Infection Model. *Adv. Sol Bio*. 17(8) : 399 - 417.

- Schultz, B., Guske, S., Dammann, U., Boyle, C. 1998. Endophyte–Host Interactions II. Defining Symbiosis of The Endophyte Host Interaction. *J. Symbiosis*. 25: 213–227.
- Semangun, H. 1993. Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Gadjah Mada University Press. Yogyakarta.
- Soenartiningih. 2009. Histologi dan Kerusakan oleh jamur *Rhizoctonia solani* Penyebab Penyakit Busuk Pelelah pada Jagung. Prosiding Seminar Nasional Biologi XX dan Kongres Perhimpunan Biologi Indonesia XIV. Malang.
- Steyaert, J.M., Ridgway, H.J., Elad, Y., Stewart, A. 2003. Genetic Basis of Mycoparasitism: A Mechanism of Biological Control by Species of *Trichoderma*. *J. Crop Hort.* 31: 281–291.
- Tanada, Y dan Kaya, H.K. 1993. *Insect Pathology*. San Diego: Academic Press, INC. Harcourt Brace Jovanovich, Published.
- Tohid, V.K., Taheri, P., Muller, D., Combaret, C.P., Seyet, J.V., Taghavi, M., Tarighi, S., Loccoz, Y.M. 2017. Phylogenetic Diversity and Antagonistic Traits of Root and Rhizosphere *Pseudomonads* of Bean From Iran for Controlling *Rhizoctonia solani*. *J. Research in Microbiology*. 168(8) : 760-772.
- Vega, F., Goettel, M., Blackwell, M., Chandler, D., Jackson, M., Keller, S., Koike, M. 2009. Fungal Entomopathogens: New Insights on Their Ecology. *Fungal Ecol.* 2: 149-159.
- Walstad, J. D., Anderson, R. F., Stamhauch, W. J. 1970. Effects of Environmental Conditions on Two Species of Muscardine Fungi (*Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*). *J. Invertebrate Pathology*. 16: 221-226.
- Wang, Q., dan Xu, L. 2012. Beauvericin, a Bioactive Compound Produced by fungi. *Adv. Molecules*. 17: 2367–2377.
- Wharton, P., W. Kirk, D. Berry, S., Snapp. 2007. *Rhizoctonia* Stem Canker and Black Scurf of Potato. Michigan State University. Extension Bulletin. 1-5.
- Zeilinger, S., Galhaup, C., Payer, K., Woo, S.L., Mach, R.L., Fekete, C., Lorito, M., Kubicek, C.P. 1999. Chitinase Gene Expression during Mycoparasitic Interaction of *Trichoderma harzianum* with its Host. *J. Fungal Genet Biol.* 26: 131–140.



Tabel Lampiran 1. Analisis Uji t Persentase Daya Hambat Pertumbuhan *R.solani* oleh *B. bassiana* dan *M. anisopliae*

	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
Rerata	53,84	42,21
Varian	431,33	98,29
Pengamatan	9	9
Satuan Perbedaan	264,81	
Selisih Rerata Hipotesis	0	
db	16	
t Hitung	1,51	
P(T<=t) one-tail	0,07	
t Critical one-tail	1,74	
P(T<=t) two-tail	0,14	
t Critical two-tail	2,11	

Keterangan: Apabila nilai P(T<=t) two-tail <0,05 maka berbeda nyata, apabila >0,05 maka tidak berbeda nyata

Tabel Lampiran 2. Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 3 hsi

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	2	11,42818	5,714089	1	tn	3,4	5,61
Galat	24	137,1381	5,714089				
Total	26	148,5663	5,714089				

Tabel Lampiran 3. Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 4 hsi

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	2	68,25792	34,12896	2,192696	tn	3,4	5,61
Galat	24	373,5561	15,56484				
Total	26	441,814	16,99284				

Tabel Lampiran 4. Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 5 hsi

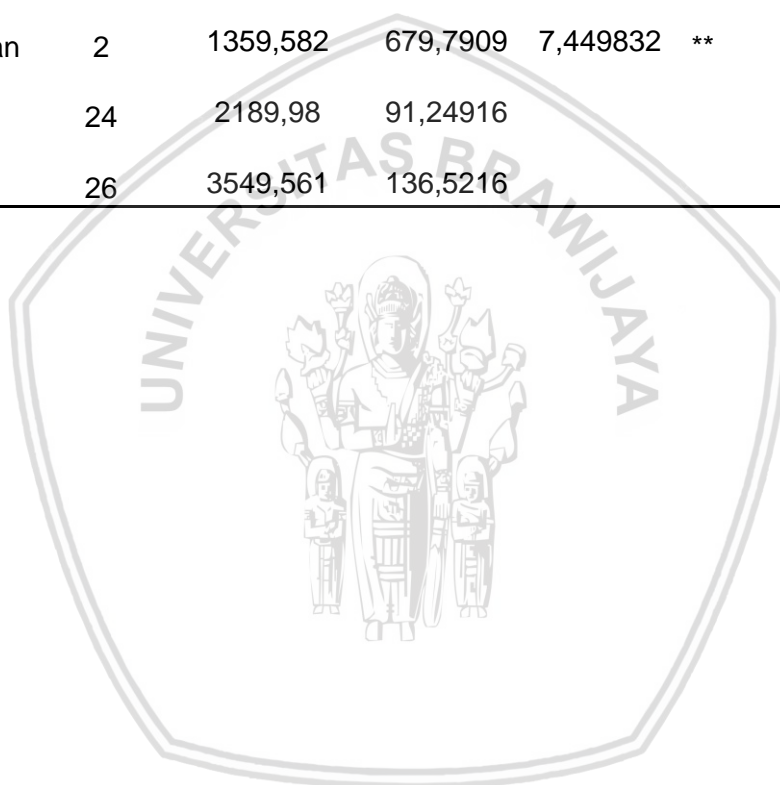
SK	Db	JK	KT	F Hit		F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	2	1289,537	644,7687	22,75267	**	3,4	5,61
Galat	24	680,1156	28,33815				
Total	26	1969,653	75,75588				

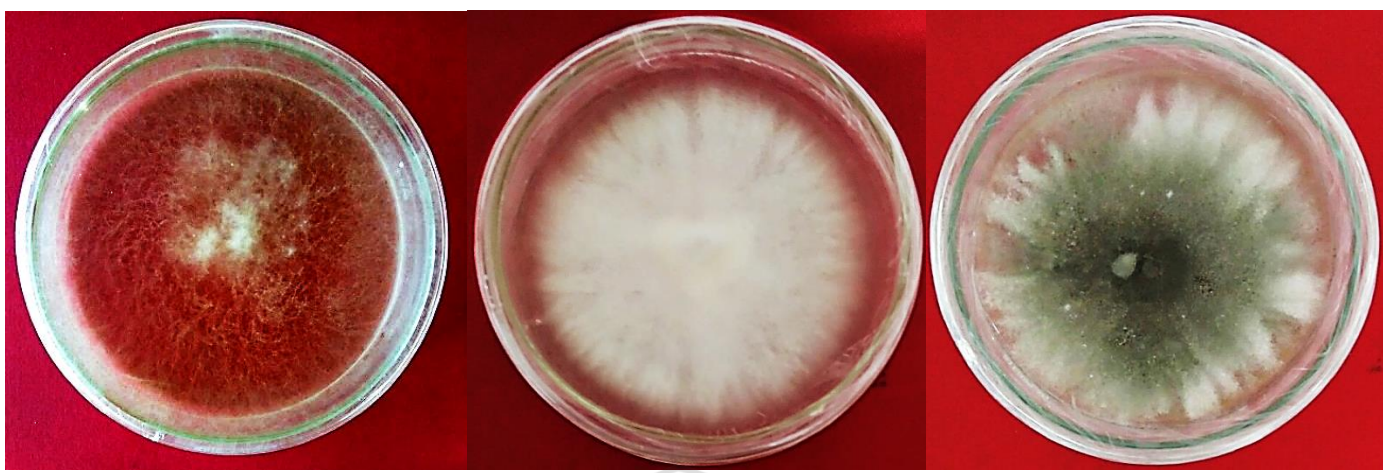
Tabel Lampiran 5. Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 6 hsi

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	2	1452,664	726,3321	11,63804	**	3,4	5,61
Galat	24	1497,844	62,41018				
Total	26	2950,508	113,4811				

Tabel Lampiran 6. Analisis Ragam Intensitas Serangan Penyakit Rebah Kecambah Kedelai 7 hsi

SK	db	JK	KT	F Hit		F Tab 5%	F Tab 1%
Perlakuan	2	1359,582	679,7909	7,449832	**	3,4	5,61
Galat	24	2189,98	91,24916				
Total	26	3549,561	136,5216				





a

b

c

Gambar Lampiran 1. Koloni jamur umur 7 hsi pada media PDA : a. *R. solani*,
b. *B. bassiana*, c. *M. anisopliae*

