

**PEMANFAATAN BAKTERI FILOSFER PADA TUMBUHAN
RUMPUT DI UB FOREST UNTUK MENGENDALIKAN JAMUR
RHIZOCTONIA SOLANI PADA PADI**

**Oleh
RAJA SARI IMAN RIZKI PERKASA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG**

2018

**PEMANFAATAN BAKTERI FILOSFER PADA TUMBUHAN
RUMPUT DI UB FOREST UNTUK MENGENDALIKAN JAMUR
RHIZOCTONIA SOLANI PADA PADI**

Oleh

RAJA SARI IMAN RIZKI PERKASA

145040201111188

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI
MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN**

SKRIPSI

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

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

2018

PERNYATAAN

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

Malang, Juli 2018

Raja Sari Iman Rizki Perkasa



LEMBAR PERSETUJUAN

Judul penelitian : Pemanfaatan Bakteri Filosfer pada Tumbuhan Rumput di UB *Forest* untuk Mengendalikan Jamur *Rhizoctonia solani* pada Padi

Nama Mahasiswa : Raja Sari Iman Rizki Perkasa

NIM : 145040201111188

Jurusan : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Program Studi : Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping II

Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D.
NIP. 19720919 199802 1 001

Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc
NIK. 2014098805042001

Diketahui
Ketua Jurusan

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

Tanggal Persetujuan:

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Penguji II

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

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

Penguji III

Penguji IV

Lugman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D
NIP. 19720919 199802 1 001

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

Tanggal Lulus:



Skripsi ini kupersembahkan untuk

keluarga ku tersayang, Eva Monica, Kontrakan
Joyosuko, Keluarga ku Christian Community, serta orang-
orang terkasihku lainnya

RINGKASAN

Raja Sari Iman Rizki Perkasa. 145040201111188. Pemanfaatan Bakteri Filosfer pada Tumbuhan Rumput di UB Forest untuk Mengendalikan Jamur *Rhizoctonia solani* pada Padi. Dibawah Bimbingan Luqman Qurata Aini SP., M.Si., Ph.D Sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc Sebagai Pembimbing Pendamping.

Padi merupakan salah satu komoditas utama di Indonesia. Masyarakat Indonesia pada umumnya mengkonsumsi padi sebagai makanan pokok, sehingga kebutuhan padi nasional cukup tinggi. Kebutuhan padi yang cukup tinggi tidak diimbangi dengan produksi padi yang tinggi dan stabil. Faktor yang menyebabkan produksi padi di Indonesia menjadi tidak stabil, salah satunya adalah serangan penyakit hawar pelepah padi akibat jamur *Rhizoctonia solani*. Upaya pengendalian yang dapat dilakukan untuk mengendalikan jamur *R. solani* salah satunya dengan menerapkan Pengendalian Hama Terpadu (PHT), salah satunya memanfaatkan agens antagonis sebagai musuh alami dari jamur tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bakteri yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap jamur *R. solani* melalui kegiatan eksplorasi pada tumbuhan rumput di UB Forest, serta bertujuan untuk mengetahui karakteristiknya.

Penelitian dilakukan di laboratorium Penyakit Tumbuhan jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, mulai dari bulan febuari 2018 sampai dengan bulan juli 2018. Eksplorasi bakteri filosfer yang berpotensi sebagai agens antagonis terhadap jamur *R. solani* dilakukan pada permukaan daun tumbuhan rumput di UB Forest.. Tahapan penelitian yang dilakukan meliputi pengambilan sampel, isolasi, purifikasi, dan uji antagonis pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*. Uji *in vitro* dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan, sedangkan pada uji *in vivo*, dilakukan dengan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 7 perlakuan.

Hasil penelitian menunjukkan melalui eksplorasi diperoleh 32 isolat bakteri filosfer. Berdasarkan seleksi bakteri antagonis, sebanyak 23 isolat menunjukkan kemampuan sebagai agens antagonis terhadap jamur *R. solani*. Isolat bakteri dengan kemampuan terbaik yaitu isolat F8, F16, F17, F24 dan F30 yang digunakan dalam pengujian *in vitro* menunjukkan perbedaan nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*. Hasil penelitian menunjukkan walaupun perlakuan bakteri antagonis mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro*, namun tidak mampu memberikan pengaruh nyata dalam menekan penyakit hawar pelepah padi dibanding perlakuan kontrol aquades. Perlakuan bakteri antagonis juga menunjukkan bahwa bakteri yang digunakan tidak mampu untuk meningkatkan tinggi tanaman padi dibanding kontrol aquades. Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi diketahui bahwa isolat yang mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani* termasuk kedalam genus *Pantoea* sp, *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, dan *Xanthomonas* sp.

SUMMARY

Raja Sari Iman Rizki Perkasa. 145040201111188. Utilization of Filosphere Bacteria in Grass Plant at UB Forest to Control *Rhizoctonia solani* Fungi on Rice. Under the Guidance of Luqman Qurata Aini SP., M.Si., Ph.D as a Supervisor and Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc as advisor.

Rice is one of the main commodities in Indonesia. Indonesian people generally consume staple food, the level of national rice needs is quite high. High enough rice needs are not balanced with high and stable rice production. Factors that cause rice production in Indonesia to become unstable, one of which is the attack of rice midrib blight caused by *Rhizoctonia solani* fungus. Control efforts that can be done to control *R. solani* fungus by implementing Integrated Pest Management (IPM), one of which uses antagonistic agents as natural enemies of the fungus. This study aims to find the ingredients used as antagonistic agents for *R. solani* fungi through activities in grass plants in UB Forest, and also to find out its characteristics.

The research was carried out at the Plant Disease Laboratory of Pest and Plant Diseases, starting from February 2018 until July 2018. Exploration of natural bacteria used as antagonistic agents against *R. solani* mushrooms was carried out on the grass leaf surface in UB Forest. carried out include sampling, isolation, purification, and antagonistic tests at the level of in vitro and in vivo. The in vitro test was carried out with a Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments, during in vivo, carried out by a Randomized Group Design (RBD), with 7 treatments.

The results showed that through exploration, 32 isolates of delicious bacteria were obtained. Based on antagonistic bacterial enzymes, 23 isolates showed the ability as an antagonist agent against *R. solani* mushroom. The best ability of bacterial isolates are isolates F8, F16, F17, F24 and F30 which are used in in vitro testing to measure the growth of *R. solani* fungi. The results showed that antagonistic bacteria were able to inhibit the growth of *R. solani* fungi at the level of in vitro, but were unable to provide optimal results. The treatment of antagonistic bacteria also shows that bacteria that are unable to lift plants are high. Based on the results of the characterization and information stated that isolates capable of producing *R. solani* fungi belong to the genera *Pantoea* sp, *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, and *Xanthomonas* sp.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas berkat dan rahmatnya yang telah menuntun penulis sehingga dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul “Pemanfaatan Bakteri Filosfer pada Tumbuhan Rumput di UB *Forest* untuk Mengendalikan jamur *Rhizoctonia solani* pada Padi”.

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan dukungan kepada penulis.

1. Kedua orang tua dan adik-adik atas dukungan serta doa yang telah diberikan kepada penulis, sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.
2. Luqman Qurata Aini SP., M.Si., Ph.D dan Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc selaku dosen pembimbing yang selalu memberikan nasihat dan bimbingan kepada penulis
3. Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, serta kepada seluruh dosen, dan karyawan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan yang telah mendukung penulis dalam menyelesaikan tugas akhir
4. Teman-teman satu bimbingan skripsi serta seluruh teman laboratorium bakteri, yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir.
5. Keluarga Christian Community, Ex-Pengurus Christian Community 2016-2017, teman-teman mahasiswa intelek (Ryon, Budi, Rick, Richard, Yosua, Jordi, dan Jhones). Penulis juga berterimakasih kepada Eva Monica Kristanti yang telah mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan tugas akhir ini

Penulis berharap semoga laporan ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran bagi ilmu pengetahuan di masa datang.

Malang, Juli 2018

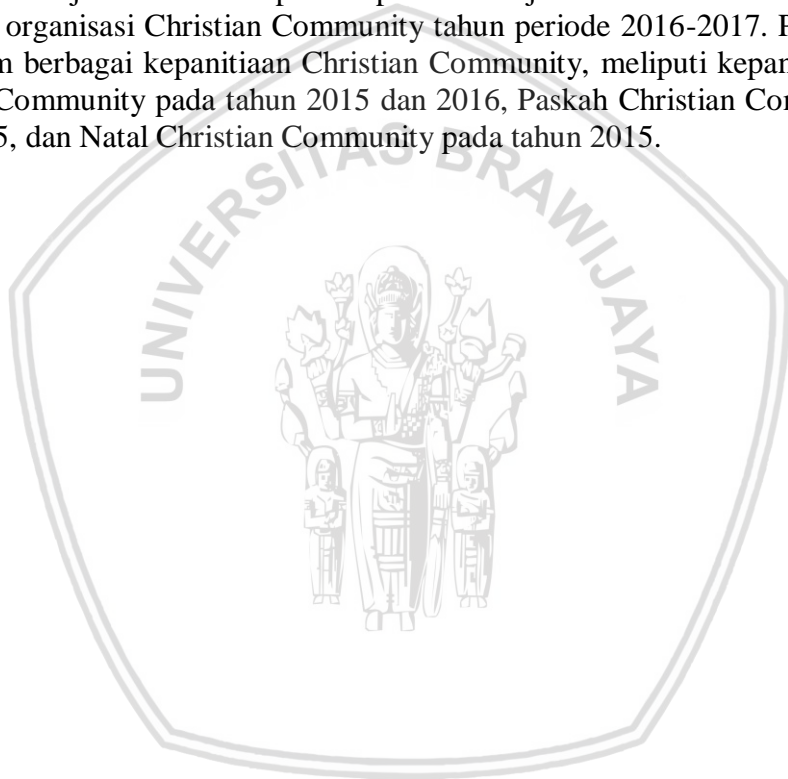
Penulis

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jakarta pada tanggal 27 April 1996 sebagai putra pertama dari empat bersaudara dari Bapak Marulam Manalu dan Ibu Arusmauli Munthe (Alm.).

Penulis menempuh pendidikan dasar di SD Permata Kasih Jakarta pada tahun 2002 sampai tahun 2008, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 199 Jakarta pada tahun 2008 dan selesai pada tahun 2011. Pada tahun 2011 sampai tahun 2014 penulis studi di SMAN 44 Jakarta. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 Program Studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur SNMPTN.

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi koordinator bidang 3 Doa dan Pemerhati organisasi Christian Community tahun periode 2016-2017. Penulis pernah aktif dalam berbagai kepanitiaan Christian Community, meliputi kepanitiaan Retreat Christian Community pada tahun 2015 dan 2016, Paskah Christian Community pada tahun 2015, dan Natal Christian Community pada tahun 2015.



DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN	i
SUMMARY	ii
KATA PENGANTAR	iii
RIWAYAT HIDUP	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	2
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
1.5 Hipotesis	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tanaman Padi	4
2.2 Penyakit Hawar Pelepah Padi	4
2.3 Potensi UB Forest	7
2.4 Tumbuhan Rumput	7
2.5 Bakteri Filosfer	8
III. METODE PENELITIAN	10
3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian	10
3.2 Alat dan Bahan	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian	10
3.4 Analisis Data	17
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	18
4.1 Isolasi Jamur <i>Rhizoctonia solani</i> (<i>R. solani</i>)	18
4.2 Hasil Eksplorasi dan Seleksi Bakteri Filosfer sebagai Agens Antagonis terhadap Jamur <i>R. solani</i>	19
4.3 Persentase Penghambatan Jamur <i>R. solani</i> oleh Bakteri Filosfer secara <i>in vitro</i>	20
4.4 Rerata Tinggi Tanaman Padi	22
4.5 Persentase keparahan Penyakit Hawar Pelepah Padi secara <i>in vivo</i>	23
4.6 Karakterisasi Bakteri Filosfer	24
4.7 Identifikasi Bakteri Filosfer	31
4.8 Pembahasan Umum	32
V. KESIMPULAN DAN SARAN	36
5.1 Kesimpulan	36
5.2 Saran	36
DAFTAR PUSTAKA	37
LAMPIRAN	43

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Teks	Halaman
1.	Gejala Penyakit Hawar Pelepah Daun	5
2.	Jamur <i>R. solani</i>	6
3.	Sketsa Seleksi Bakteri Filosfer pada Cawan Petri	11
4.	Sketsa Pengujian <i>in vitro</i> pada Cawan Petri.....	12
5.	Kenampakan Jamur Hasil Isolasi.....	18
6.	Hasil Pengenceran Bakteri Filosfer.....	19
7.	Uji <i>in vitro</i>	22
8.	Bentuk Koloni Bakteri Filosfer.....	25
9.	Uji Hipersensitif.....	26
10.	Pewarnaan Gram.....	27
11.	Uj KOH 3%	27
12.	Uji Pewarnaan Spora.....	28
13.	Pengujian Oksidatif-Fermentatif.....	29
14.	Koloni Kuning pada Media YDC	30
15.	Uji Pigmen Fluorescens.....	30

LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Uji Antagonis secara <i>in vitro</i>	46
2.	Uji Hipersensitif.....	47
3.	Uji KOH 3%	47
4.	Uji Oksidatif-Fermentatif	48
5.	Koloni tunggal bakteri filosfer.....	48
6.	Uji Pewarnaan Gram	49
7.	Uji Katalase	49
8.	Dokumentasi Tanaman Padi.....	50
9.	Skema diagram Schaad	51

DAFTAR TABEL

Nomor	Teks	Halaman
1.	Perlakuan Uji Antagonis Bakteri Filosfer secara <i>in vitro</i>	13
2.	Perlakuan Uji Antagonis Bakteri Filosfer secara <i>in vivo</i>	15
2.	Perbandingan kenampakan Jamur <i>R. solani</i>	18
3.	Hasil seleksi Bakteri Filosfer	20
4.	Rerata Persentase Penghambatan jamur <i>R. solani</i> oleh Bakteri Filosfer	21
5.	Rerata tinggi tanaman padi	22
6.	Persentase Keparahan Hawar Pelepah Padi.....	23
7.	Karakteristik Morfologi Bakteri Filosfer	24
8.	Karakteristik Fisiologi-Biokimia Bakteri Filosfer	25

LAMPIRAN

Nomor	Teks	Halaman
1.	Tabel ANOVA Persentase Penghambatan Pertumbuhan jamur <i>R. solani</i> secara <i>in vitro</i>	43
2.	Tabel ANOVA Rerata Tinggi Tanaman Padi Padi	44
3.	Tabel ANOVA Persentase Keparahan Penyakit Hawar Pelepah Daun Padi Secara <i>in vivo</i>	45



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi *Oryza sativa* L. (Poaceae) merupakan tanaman penghasil beras serta salah satu komoditas utama di Indonesia. Masyarakat Indonesia pada umumnya mengkonsumsi beras sebagai makanan pokok, sehingga kebutuhan beras nasional cukup tinggi. Kebutuhan beras yang cukup tinggi tidak dimbangi dengan produksi padi yang tinggi dan stabil. Produksi padi di Indonesia masih bersifat fluktuatif, pada tahun 2011 produksi padi nasional sebesar 65.756.904 ton, tahun 2012 naik menjadi 69.056.126 ton, tahun 2013 naik menjadi 71.279.709 ton. Produksi padi pada tahun 2014 turun menjadi 70.846.465 ton dan pada tahun 2015 kembali naik menjadi 75.397.841 ton (BPS, 2016). Faktor yang menyebabkan produksi padi di Indonesia menjadi tidak stabil, salah satunya adalah serangan penyakit hawar pelepah padi akibat jamur *Rhizoctonia solani* (*R. solani*).

Rhizoctonia solani merupakan patogen tular tanah yang dapat bertahan lama di dalam tanah dengan membentuk sklerotium (Soenartiningasih *et al.*, 2015). Patogen tersebut dapat menyerang tanaman dimulai dari masa awal, yakni pada saat biji baru ditanam. Serangan dari jamur *R. solani* dapat menimbulkan kehilangan hasil panen yang cukup tinggi. Apabila serangan jamur ini menyerang sampai ke daun bendera, maka kerugian yang dihasilkan dapat mencapai 20% (Ou, 1985). Pengendalian terhadap *R. solani* penting dilakukan untuk mengurangi kerugian yang disebabkan.

Upaya pengendalian yang dapat dilakukan untuk mengendalikan jamur *R. solani* salah satunya dengan menerapkan Pengendalian Hama Terpadu (PHT), dengan memanfaatkan bakteri antagonis sebagai musuh alami dari jamur tersebut. Penggunaan bakteri antagonis selain dapat menekan pertumbuhan dari patogen penyebab penyakit juga dapat meningkatkan pertumbuhan dari tanaman (Keel dan Defago, 1997). Bakteri antagonis yang bermanfaat dapat ditemukan di berbagai tempat yang salah satunya adalah pada permukaan daun (filosfer) tumbuhan rumput (Poaceae) di UB Forest. Keberadaan bakteri filosfer pada permukaan daun memiliki

relung yang sama dengan jamur *R. solani* yang mampu menyerang hingga daun bendera pada tanaman padi (Inagaki, 2001). Relung yang sama membuat organisme tersebut memiliki interaksi baik sebagai kompetitor, maupun pemangsa (Polechova, 2008).

Upaya untuk mendapatkan bakteri filosfer yang bermanfaat sebagai agens antagonis dilakukan dengan cara eksplorasi pada beberapa tumbuhan rumput di UB Forest. Isolat bakteri yang didapat melalui hasil eksplorasi kemudian akan diuji kemampuan antagonisnya terhadap jamur *R.solani*, sehingga ditemukan bakteri yang bersifat sebagai agens antagonis. Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa bakteri filosfer yang memiliki potensi sebagai agens antagonis terhadap patogen tanaman adalah *Pseudomonas flourescens* yang ditemukan pada filosfer tanaman *sugar bit*. (Ellis *et al.*, 1999). Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa pada permukaan daun tumbuhan rumput ditemukan bakteri *Enterococcus* sp (Ott *et al.*, 2001), yang bermanfaat sebagai agens antagonis terhadap jamur (Belguesmia *et al.*, 2012). Pada tumbuhan rumput ditemukan beberapa bakteri dalam *family* Micrococcaceae (Behrendt *et al.*, 2004) yang juga bermanfaat sebagai agens antagonis. Penelitian sebelumnya juga melaporkan bahwa bakteri filosfer mampu untuk menghambat *Rhizoctonia solani* pada padi (Nagendran *et al.*, 2014), dan *Venturia inaequalis* pada tanaman apel (Kucheryava *et al.*, 1999).

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, dilaporkan bahwa pada bagian permukaan daun tumbuhan termasuk tumbuhan rumput terdapat bakteri filosfer yang bersifat antagonis terhadap patogen tanaman (Ellis *et al.*, 1999; Ott *et al.*, 2001; Behrendt *et al.*, 2004; Nagendran *et al.*, 2014; Kucheryava *et al.*, 1999). Bakteri antagonis yang ditemukan pada tiap tumbuhan berbeda spesiesnya serta berbeda patogen sarasannya. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh bakteri filosfer pada permukaan daun tumbuhan rumput di UB Forest yang bersifat antagonis, mengkaji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*, serta mengetahui karakteristik bakteri filosfer tersebut.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah bakteri filofora pada permukaan daun tumbuhan rumput di UB *Forest* bersifat antagonis dan bagaimana kemampuan dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* dan *in vivo* ?
2. Bagaimana karakteristik bakteri filofora tersebut ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui keberadaan bakteri filofora pada tumbuhan rumput di UB *Forest* yang bersifat antagonis dan mengkaji kemampuannya dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*.
2. Mengkaji karakteristik bakteri filofora yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*.

1.4 Manfaat Penelitian

1. Memberikan informasi mengenai alternatif pengendalian jamur *R. solani*.
2. Memberikan informasi mengenai karakteristik bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*.

1.5 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan adalah pada permukaan daun tumbuhan rumput terdapat bakteri filofora yang bermanfaat sebagai agens antagonis terhadap jamur *R. solani* dan mampu untuk menekan pertumbuhannya.

I. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Padi

Tanaman padi memiliki nama latin *Oryza sativa* (L.), termasuk kedalam genus *oryza*, family *poaceae*, ordo *poales*, dan masuk kelas monokotil atau tumbuhan berkeping satu. Tanaman ini termasuk dalam divisi *spermatophyte* dan kingdom *plantae* (Tjitrosoepomo, 2004). Tanaman padi merupakan tanaman semusim dengan akar serabut, daun berbentuk lanset, berwarna hijau muda hingga hijau tua, dan berurat daun sejajar (AAK, 1995).

Kondisi iklim dan tanah dapat mempengaruhi produksi dari tanaman padi. Pertumbuhan tanaman padi cocok pada wilayah dengan suhu 23⁰ C namun memiliki kelembaban yang cukup tinggi. Curah hujan yang cocok rata-rata 200 mm/bulan atau 1500 – 2000 mm/tahun. Untuk ketinggian tempat yang cocok adalah berkisar antara 0 – 1500 mdpl (Siswoputranto, 1976). Faktor lain yang dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman padi adalah faktor tanah. Tanah yang cocok untuk budidaya tanaman padi memiliki kriteria memiliki struktur ringan, drainase baik, dan dapat memenuhi kebutuhan unsure hara tanaman padi (Ningsih, 2014).

2.2 Penyakit Hawar Pelepah Padi

2.2.1 Penyebab Penyakit Hawar Pelepah Padi

Hawar Pelepah padi merupakan penyakit yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*. Penyakit ini dapat berkembang diawali pada saat sklerotia ataupun bagian dari jamur *R. solani* berkecambah dan kemudian mulai menginfeksi pelepah padi. Infeksi dari jamur ini akan menyebabkan kerusakan pada bagian pelepah sehingga batang padi mudah rebah, serta terganggunya aliran air dan nutrisi (Inagaki, 2001). Jamur *R. solani* juga dapat menyerang tanaman rumput yang ada di lahan sawah, sehingga membuat inokulum dari jamur ini sangat melimpah (Miller dan Webster, 2001).

2.2.2 Gejala Penyakit Hawar Pelepah Padi

Penyakit hawar pelepah padi dapat mengakibatkan kerugian yang cukup besar. Gejala penyakit ini diawali dengan adanya bercak pada pelepah padi. Bercak dimulai

pada bagian pelepah dekat permukaan air, selanjutnya berkembang ke pelepah atau helai daun bagian atasnya. Bercak mula-mula berwarna kelabu kehijau-hijauan, berbentuk oval atau elips dengan panjang 1–3 cm, pada pusat bercak warna menjadi putih keabu-abuan dengan tepi berwarna coklat. Bercak membentuk sklerotia berwarna coklat dan mudah lepas. Keadaan lembab akan mendukung tumbuhnya benang-benang (miselia) berwarna putih atau coklat muda, menjalar ke bagian atas tanaman, dan menular ke pelepah daun atau helaian daun dengan cara bersentuhan satu sama lain. Pada serangan berat, seluruh daun menjadi hawar (BPTP Lampung, 2015). Infeksi lebih lanjut dari jamur ini dapat menyerang hingga ke daun bendera (Inagaki, 2001).



Gambar 1. Gejala penyakit hawar pelepah daun (Nurhasanah, 2012).

2.2.3 Penyebaran Penyakit.

Jamur *R. solani* merupakan patogen tular tanah, dan dapat bertahan pada lingkungan dalam bentuk miselium maupun sklerotia jika kondisi lingkungannya tidak mendukung. Sklerotia yang telah terbentuk dapat dengan mudah berpindah tempat yang disebabkan oleh aliran air maupun hembusan angin. Sklerotia yang telah berpindah tempat, apabila menempel pada tanaman inangnya maka sklerotia tersebut akan berkecambah dan dapat menginfeksi tanaman inangnya (Direktorat Perlindungan Tanaman Pangan, 2011). Penyebaran penyakit hawar pelepah daun padi juga dapat melalui alat pertanian yang telah terkontaminasi jamur *R. solani* (Agrios, 2005).

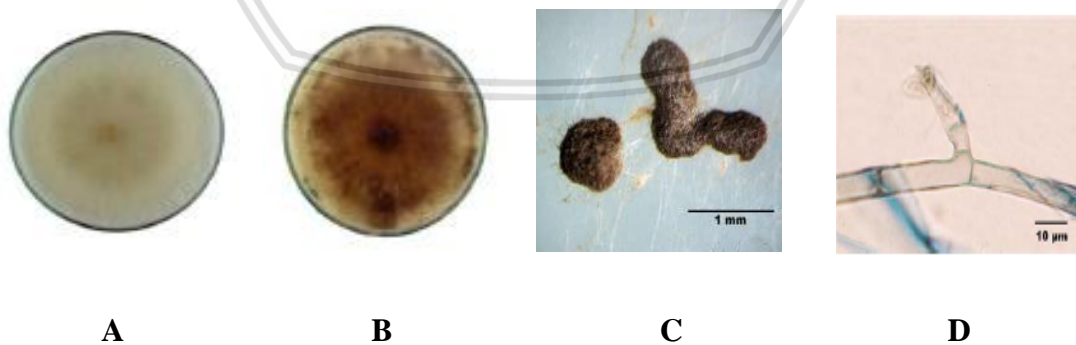
Perkembangan dan infeksi Jamur *R. solani* dipengaruhi oleh kondisi lingkungannya. Beberapa ras dapat aktif menginfeksi pada suhu 15°C-18°C,

namun beberapa ras aktif menginfeksi pada suhu 35⁰C. Penyakit dapat menginfeksi sangat parah pada kondisi tanah yang basah dibanding tanah yang kering (Agrios, 2005).

2.2.4 Morfologi Jamur *Rhizoctonia solani*

Pengamatan jamur *R. solani* dilakukan dengan mengamati morfologinya, baik secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dapat dilakukan dengan mengamati miselium, meliputi warna miselium, tekstur miselium, elevasi dari miselium, serta keberadaan sklerotia. Jamur *R. solani* memiliki kenampakan makroskopis berupa miselium berwarna cokelat kemerahan, tekstur permukaan miselium yang kasar, serta adanya sklerotia berwarna kecoklatan dengan bentuk bulat-pipih (Nurhasanah, 2012).

Pengamatan morfologi jamur *R. solani* secara mikroskopis dapat dilakukan dengan mengamati hifa, meliputi warna hifa, sekat pada hifa, sudut percabangan hifa, panjang hifa, lebar hifa, serta ada tidaknya modifikasi hifa. Pengamatan morfologi secara mikroskopis juga dilakukan dengan mengamati ada tidaknya konidia yang dihasilkan. Jamur *R. solani* memiliki kenampakan mikroskopis berupa hifa hialin, memiliki sekat, memiliki percabangan yang tegak lurus, serta tidak menghasilkan konidia. Hifa dari jamur *R. solani* memiliki panjang ruas $56,99 \pm 18,54 \mu\text{m}$ dan lebar $4,59 \pm 1,13 \mu\text{m}$ (Nurhasanah, 2012).



Gambar 2. Jamur *R. solani*. (a: Miselium muda, b: Miselium tua, c: Sklerotia, d: Hifa). (Nurhasanah, 2012)

2.3 Potensi UB Forest

UB Forest merupakan kawasan hutan pendidikan dengan luas lebih kurang 554 Hektar yang terletak di Dusun Sumbersari, Desa Tawang Argo, Karangploso, Kabupaten Malang. Komoditas yang ada di UB Forest cukup beragam, meliputi tanaam rumput, tanaman kopi, pinus, serta tanaman dari famili legume/fabaceae dan famili solanaceae. UB Forest yang dijadikan sebagai percontohan hutan lindung dan konservasi alam membuat lingkungan dan kondisi alam UB Forest masih terjaga. Kondisi alami dan bebas bahan kimia sintetik menyebabkan terdapat biodiversitas mikroorganismenya yang cukup tinggi (Fatmawati, 2015).

Biodiversitas mikroorganismenya yang cukup tinggi memiliki potensi yang cukup besar yang dapat dimanfaatkan, diantaranya sebagai agens pengendali hama dan penyakit, agens bioremediasi, agens penghasil protein dan enzim-enzim, serta lainnya (Suryanto, 2009). Biodiversitas mikroorganismenya yang tinggi merupakan potensi bagi bidang pertanian (Suryanto, 2009), dan memungkinkan terdapat mikroorganismenya yang mampu berperan sebagai agens antagonis bagi patogen tanaman. Mikroorganismenya yang telah digunakan dalam bidang pertanian meliputi bakteri, meliputi genus *Bacillus*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Agrobacterium* dan *Streptomyces* (Figuiredo *et al.*, 2011). Potensi biodiversitas mikroorganismenya perlu dikaji lebih lanjut untuk mengoptimalkan keberadaannya dan dalam bidang pertanian dapat digunakan untuk mengurangi dampak penggunaan bahan kimia sintetik (Bonjar, 2006).

2.4 Tumbuhan Rumput

Rumput-rumputan merupakan tumbuhan dalam famili *Poaceae* (Finnot *et al.*, 2014). Rumput (*Poacea*) memiliki keragaman yang cukup tinggi, meliputi 700 genus dan 10.000 spesies, termasuk didalamnya adalah Padi (*Oryza sativa*). Keragaman tinggi berkaitan dengan persebaran tumbuhan rumput yang dapat tumbuh di berbagai tempat, termasuk benua Antartika (Finnot *et al.*, 2014). Famili *Poacea* memiliki karakteristik yang hampir sama pada semua spesies, disebabkan hubungan kekerabatan *monofiletik* (GPWG, 2001). Karakteristik khas dari tumbuhan rumput

dapat dilihat pada bentuk batang yang silinder, dan tidak berkayu, serta bentuk daun sessile dengan basis selubung yang panjang.

Tumbuhan rumput banyak dimanfaatkan sebagai pakan ternak karena dapat tumbuh cepat dan ditemukan diberbagai tempat. Tumbuhan rumput diantaranya padi dan gandum juga dimanfaatkan sebagai makanan utama. Rumput selain dimanfaatkan untuk pakan dan makanan utama manusia, juga dimanfaatkan sebagai indikator lingkungan. Lingkungan yang masih terjaga seperti hutan alami maupun hutan lindung akan memiliki keragaman rumput yang tinggi (Londe, 2014).

2.5 Bakteri Filosfer

Permukaan daun (filosfer) merupakan habitat bagi berbagai mikroorganisme meliputi bakteri, jamur, ragi, dan protozoa. Bakteri yang menempati permukaan daun dapat disebut sebagai bakteri filosfer dan merupakan bakteri epifit (Lindow dan Brandl, 2003). Bakteri merupakan mikroorganisme yang populasinya paling banyak menempati permukaan daun dan dapat mencapai kerapatan 10^8 sel dalam setiap cm^2 (Konopka, 2006). Bakteri filosfer memiliki adaptasi khusus untuk dapat bertahan hidup pada permukaan daun (Lindow dan Brandl, 2003). Bakteri filosfer biasanya banyak ditemukan pada wilayah dengan kelembaban yang cukup tinggi (Madigan *et al.*, 1997). Bakteri filosfer pada tanaman tidak terdapat merata pada seluruh permukaan daun, melainkan keberadaannya mengelompok pada situs-situs tertentu. Secara umum populasi bakteri filosfer banyak terdapat pada bagian bawah permukaan daun (Beattie, 1999).

Bakteri filosfer dapat ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan, termasuk tumbuhan rumput. Bakteri filosfer memiliki potensi besar sebagai agens antagonis terhadap patogen tanaman. Bakteri filosfer pada habitatnya mampu berperan sebagai kompetitor nutrisi dan kompetitor ruang-tempat bagi patogen tanaman (Lindow dan Brandl, 2003). Kemampuan bakteri filosfer sebagai kompetitor patogen dapat digunakan sebagai alternatif pengendalian hayati (Mohamed dan Counter, 1995). *Pseudomonas fluorescens* merupakan contoh bakteri yang ditemukan pada filosfer tanaman *sugar bit*, dan memiliki potensi sebagai agens antagonis terhadap patogen

tanaman (Ellis *et al.*, 1999). Pada tumbuhan rumput ditemukan bakteri *Enterococcus* sp (Ott *et al.*, 2001), bakteri dalam *family* Micrococcaceae (Behrendt *et al.*, 2004).



I. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Pelaksanaan Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, rumah kawat Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, dan UB Forest. Penelitian ini dimulai dari bulan Februari 2018 sampai dengan bulan Juli 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan selama kegiatan penelitian antara lain tabung reaksi 10 ml, *vortex*, tabung 1 ml, mikropipet, cawan petri, jarum ose, *stick* L, botol media, jarum suntik, preparat, *cover glass*, sprayer, pisau, pinset, bunsen, pipet, gelas ukur, mikropipet, timbangan, *Laminar Air Flow Cabinet* (L AFC), gunting, cutter, tissue, kamera, sentrifugasi, pipet tetes, penggaris, dan spektrofotometer.

Bahan yang digunakan selama kegiatan penelitian antara lain media *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), media *Potato Dextrose Agar* (PDA), media *Yeast Dextrose CaCO₃* (YDC), media Oksidatif-Fermentatif (OF), media King's B, alkohol 70%, aquades, biakan murni jamur *R. solani*, biakan murni bakteri filosfer, spirtus, kertas whattman, *water agar*, Clorox, KOH 3%, H₂O₂, iodin, safranin, kristal violet, malachite green, tanaman tembakau, dan tanaman padi.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Pengambilan sampel dan isolasi jamur *R. solani*

Isolat jamur *R. solani* didapatkan melakukan isolasi pada tanaman padi yang menunjukkan gejala serangan penyakit hawar pelepah padi. Isolat hasil isolasi kemudian dimurnikan pada media PDA, kemudian dilakukan identifikasi untuk memastikan jenis jamur yang didapat.

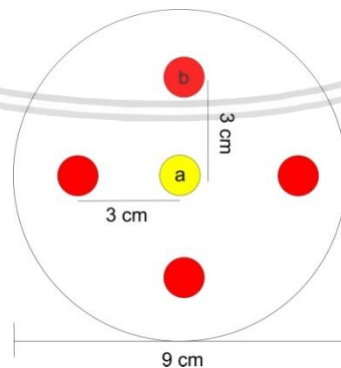
3.3.2 Pengambilan sampel dan isolasi bakteri filosfer

Isolat bakteri filosfer diambil dari filosfer tumbuhan rumput di UB Forest. Berdasarkan perbandingan dengan *Hand Book on Weed Identification*, diketahui

tumbuhan rumput yang dijadikan sampel pengambilan isolat bakteri filosfer adalah *Axonopus compressus* dan *Digitaria sanguinalis*. Penggunaan tumbuhan rumput sebagai objek pengambilan sampel berdasarkan hubungan kekerabatan monofiletik dengan tanaman padi, serta tumbuhan rumput merupakan inang alternatif dari jamur *R. solani*. Metode pengambilan sampel dilakukan dengan cara mengambil beberapa daun pada satu tanaman, yaitu daun urutan pertama, kedua, dan ketiga. Isolasi bakteri filosfer dilakukan dengan metode pengenceran berseri, yakni dengan mengambil sampel daun lalu dimasukkan kedalam tube yang telah berisi aquades steril. Sampel kemudian di vortex selama lebih kurang 3 menit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit. Suspensi bakteri kemudian diencerkan menjadi kerapatan 10^{-1} cfu/ml, 10^{-3} cfu/ml, 10^{-5} cfu/ml dan kerapatan 10^{-7} cfu/ml lalu diisolasi kedalam media NA dengan metode cawan sebar untuk mendapatkan koloni tunggal. Koloni tunggal yang telah didapatkan kemudian dimurnikan untuk mendapatkan biakan murni dari bakteri filosfer.

3.3.3 Seleksi Bakteri Filosfer

Seleksi bakteri filosfer bertujuan untuk mengetahui isolat mana yang berpotensi sebagai agens antagonis. Seleksi dilakukan dengan metode kultur ganda (Korsten *et al.*, 1995) yaitu menempatkan bakteri filosfer dan jamur *R. solani* dalam satu cawan petri.



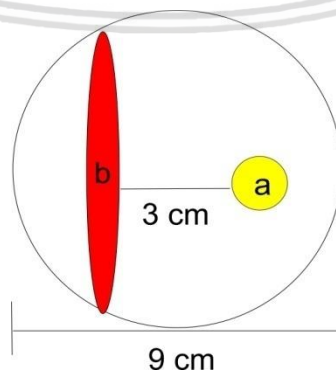
Gambar 3. Sketsa seleksi bakteri filosfer pada cawan petri. (a: Jamur *R. solani*, b: bakteri filosfer)

Isolat bakteri filofser yang telah didapat dibuat menjadi suspensi dengan cara ketentuan sebanyak 2 ose bakteri kedalam 1 ml aquades steril. Kertas saring direndam kedalam suspensi bakteri lalu dikering-anginkan selama lebih kurang 5 jam. Kertas saring tersebut kemudian ditumbuhkan pada media NA dengan metode 4 kuadran yang di bagian tengahnya ditumbuhkan jamur *R. solani*. Isolat dengan kemampuan sebagai agens antagonis ditandai dengan adanya zona hambat.

3.3.4 Uji Antagonisme Bakteri Filosfer

a. Uji *in vitro*

Uji Antagonis secara *in vitro* bertujuan untuk melihat isolat mana memiliki kemampuan terbaik sebagai *agens* antagonis terhadap jamur *R.solani* pada cawan petri dalam lingkup laboratorium. Uji antagonisme antara bakteri filofser dan jamur *R. solani* dilakukan dalam cawan petri ($\varnothing = 9$ cm). Pengujian dilakukan dengan menggunakan biakan murni dari bakteri filofser yang telah berumur 24 jam dan biakan murni jamur *R. solani* yang telah berumur 7 hari. Bakteri dengan potensi sebagai agens antagonis diuji kemampuan hambatnya dengan menggunakan metode kultur ganda (Korsten *et al.*, 1995), yakni menempatkan bakteri filofser dan jamur *R. solani* pada satu cawan petri. Bakteri filofser yang telah didapatkan, dibuat menjadi suspensi dengan kerapatan 10^9 cfu/ml, lalu digoreskan pada salah satu tepi cawan petri. Selanjutnya biakan murni jamur *R. solani* diambil menggunakan *cork borer*, dan ditumbuhkan pada cawan petri tersebut dengan jarak 3 cm dari goresan bakteri filofser.



Gambar 4. Sketsa pengujian *in vitro* pada cawan petri.(a: Jamur *R. solani*, b: Bakteri Filosfer)

Variabel pengamatan pada uji *in vitro* meliputi diameter pertumbuhan miselium jamur *R. solani*. Pertumbuhan jamur *R. solani* diamati mulai hari pertama dan berhenti pada saat miselium menyentuh tepi dari cawan petri. Persentase daya hambat dari bakteri filosoffer terhadap jamur *R. solani* dilakukan dengan membandingkan pertumbuhan miselium jamur *R. solani* yang diberikan perlakuan bakteri filosoffer dan tanpa perlakuan bakteri filosoffer, serta dihitung dengan menggunakan rumus yang dikemukakan oleh Skidmore dan Dickinson (1976):

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan:

R1 : jari-jari koloni pathogen yang menjauhi koloni agens antagonis (Kontrol)

R2 : jari-jari koloni pathogen yang mendekati koloni agens antagonis (Perlakuan)

Uji *in vitro* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan, yakni 5 perlakuan dengan menggunakan bakteri filosoffer, dan 1 kontrol positif dengan pemberian fungisida sintetik berbahan aktif heksakonazol. Setiap perlakuan pada rancangan penelitian akan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali, sehingga didapatkan 28 satuan percobaan.

Tabel 1. Perlakuan uji antagonis bakteri filosoffer secara *in vitro*

Kode	Perlakuan
F1	Isolat Bakteri Filosoffer A
F2	Isolat Bakteri Filosoffer B
F3	Isolat Bakteri Filosoffer C
F4	Isolat Bakteri Filosoffer D
F5	Isolat Bakteri Filosoffer E
F6	Fungisida berbahan aktif heksakonazol

b. Uji *in vivo*

Uji penekanan penyakit secara *in vivo* merupakan pengujian secara langsung pada tanaman padi dan bertujuan untuk melihat isolat mana yang memiliki kemampuan terbaik dalam menekan penyakit hawar pelepah padi. Tahapan pengujian meliputi:

Persiapan media tanam. Media tanam yang digunakan dalam pengujian secara *in vivo* berupa campuran tanah dan pupuk kompos. Tanah disterilkan terlebih dahulu

dengan cara menyemprotkan formalin 4% kedalam media dan diinkubasi selama 7 hari, dan kemudian dicampur dengan pupuk kompos dengan perbandingan 1:1.

Aplikasi bakteri filosfer dan Penanaman. Bakteri dengan potensi sebagai agens antagonis diuji kemampuan hambatnya dengan menggunakan metode perendaman benih. Penanaman dilakukan pada *polybag*, dengan seperempat bagiannya diisi dengan media tanam, sedangkan tiga per empat bagian yang tidak terisi. Benih padi sebelumnya telah direndam dengan suspensi bakteri filosfer dengan *optical density* (OD) 1 dan setelahnya benih ditanam. Benih padi yang digunakan adalah benih varietas Ciherang. Penanaman dilakukan dengan terlebih dahulu melakukan persemaian terhadap benih padi, kemudian setelah berumur 21 hari setelah tanam (hst), bibit dipindah ke dalam polybag dengan jumlah 10 tanaman/polybag (Rustam *et al.*, 2011)

Inokulasi jamur *R. solani*. Inokulasi dilakukan dengan mengambil miselium jamur *R. solani* dengan diameter 0,5 cm menggunakan *coke borer*. Miselium jamur diletakkan pada *polybag*, masing-masing sebanyak 3 keping. Inokulasi jamur *R. solani* dilakukan pada saat tanaman padi sudah berumur 3 minggu.

Pengamatan. Pengamatan dilakukan pada 26 hst, 31 hst, 36 hst, dan 41 hst. Pengamatan terhadap uji *in vivo* dilakukan dengan menghitung tinggi tanaman serta keparahan penyakit, yang bertujuan untuk mengkaji isolat mana yang terbaik dalam menekan perkembangan penyakit hawar pelepah padi. Keparahen penyakit akan dihitung menurut rumus Jia *et al* (2007).

$$\text{Keparahan Penyakit} = \frac{\text{Tinggi letak bercak dari pangkal}}{\text{Tinggi tanaman}} \times 100\%$$

Uji *in vivo* menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) dengan 7 perlakuan, yakni 5 perlakuan dengan menggunakan bakteri filosfer, 1 kontrol negatif dengan aquades dan 1 kontrol positif dengan pemberian fungisida sintetik berbahan aktif heksakonazol 1 ml/l. Setiap perlakuan pada rancangan penelitian akan dilakukan

pengulangan sebanyak 4 kali, dan pada tiap plot terdapat 10 tanaman, sehingga didapatkan 28 satuan percobaan dengan total 280 tanaman padi.

Tabel 2. Perlakuan uji antagonis bakteri filofser secara *in vivo*

Kode	Perlakuan
F1	Isolat Bakteri Filosfer A
F2	Isolat Bakteri Filosfer B
F3	Isolat Bakteri Filosfer C
F4	Isolat Bakteri Filosfer D
F5	Isolat Bakteri Filosfer E
F6	Kontrol Aquades
F7	Fungisida berbahan aktif heksakonazol

3.3.5 Identifikasi Isolat Bakteri Filosfer

Identifikasi bakteri filofser dilakukan untuk mengetahui genus bakteri yang telah diujikan. Identifikasi bakteri filofser meliputi karakterisasi morfologi dan fisiologi yang mengacu pada metode Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) serta skema yang dikemukakan oleh Schaad (2001) (lampiran 9.). Tahapan yang dilakukan dalam kegiatan identifikasi bakteri meliputi:

Uji Pewarnaan Gram. Uji pewarnaan Gram dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri termasuk ke dalam Gram negatif atau Gram positif. Bakteri yang digunakan untuk pewarnaan Gram adalah bakteri yang telah berumur 48 jam. Pengujian dilakukan pada kaca preparat dan kemudian dilakukan pengamatan menggunakan mikroskop. Kaca preparat disterilisasi terlebih dahulu dengan menyemprotkan alkohol dan dipanaskan dengan menggunakan api bunsen. Biakan murni bakteri disuspensikan, lalu diambil dengan jarum ose dan diletakkan pada kaca preparat, kemudian ditetesi dengan larutan ungu violet, dibiarkan selama 1 menit lalu dibilas air mengalir, dan dikering-anginkan. Biakan murni tersebut kemudian ditetesi lagi dengan larutan iodine, dibiarkan selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Biakan murni tersebut kemudian ditetesi kembali dengan alkohol 95%, dibiarkan selama 30 detik, lalu dibilas dengan air mengalir, dan dikering-anginkan. Biakan murni bakteri tersebut kemudian ditetesi kembali dengan menggunakan larutan safranin, dibiarkan selama 30 detik, lalu dibilas dengan air

mengalir, dikering-anginkan, dan diamati dibawah mikroskop (Hadioetomo, 1993). Bakteri dengan Gram positif akan berubah warna menjadi biru keunguan, sedangkan bakteri Gram negatif akan berubah warna menjadi warna merah muda (Wahyuni *et al.*, 2014).

Uji Pewarnaan Spora. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri menghasilkan endospora atau tidak. Pengujian dilakukan dengan cara meletakkan koloni tunggal dari bakteri pada kaca preparat, kemudian ditetesi dengan larutan *malachite green* selama 15 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin selama 1 menit, lalu dibilas dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Pengamatan dilakukan dibawah mikroskop untuk melihat apakah ada endospora. Endospora ditandai dengan adanya warna hijau pada sel bakteri (Sunatmo, 2007).

Uji KOH 3%. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri termasuk ke dalam bakteri Gram positif atau Gram negatif. Pengujian dilakukan dengan cara meneteskan 1-2 tetes larutan KOH 3% pada kaca preparat, kemudian dicampurkan dengan 1-2 ose suspensi bakteri. Setelah itu dengan menggunakan tusuk gigi steril campuran KOH dan suspensi bakteri diangkat, lalu dilihat apakah terbentuk benang lendir. Bakteri Gram negatif akan menghasilkan benang lendir sedangkan Gram positif tidak (Suslow *et al.*, 1982).

Uji Oksidatif-Fermentatif. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri memiliki sifat pertumbuhan aerob atau anaerob fakultatif. Pengujian ini dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri kedalam media Oksidatif-Fermentatif (pepton 2 g; NaCl 5 g; KH_2PO_4 0,3 g; agar 3 g; Bromothymoblue 1% 3 ml; aquades 1 L). Tiap bakteri yang akan diujikan diinokulasikan ke dalam dua tabung dengan ketentuan tabung pertama akan ditambahkan *water agar* untuk menciptakan kondisi anaerob dan tabung kedua tanpa diberi *water agar*. Media diinkubasi selama 3-4 hari pada suhu ruang dan dilakukan pengamatan. Perubahan media dari warna biru menjadi warna kuning menunjukkan bahwa bakteri bersifat anaerob fakultatif (Wahyuni *et al.*, 2014).

Uji Katalase. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri mampu menghasilkan enzim katalase dan memecah H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 (Kismiyati *et al.*, 2009). Pengujian dilakukan dengan cara meneteskan H_2O_2 3% sebanyak 1-2 tetes pada gelas objek, lalu ditambahkan suspensi bakteri sebanyak 1-2 ose. Bakteri yang mampu menghasilkan enzim katalase akan menghasilkan buih dan gelembung.

Uji Pigmen Fluorescens. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri termasuk kedalam kelompok bakteri yang menghasilkan pigmen fluorescens. Pengujian ini dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media King's B dan diinkubasi selama 48 jam. Koloni bakteri kemudian diamati dibawah sinar UV untuk melihat adanya pigmen fluorescens, ditandai dengan berpendarnya koloni bakteri (Nurchayanti *et al.*, 2013).

Uji Pertumbuhan pada Media YDC. Pengujian ini dilakukan secara anaerob dan aerob. Jika pengujian dilakukan pada kondisi anaerob, maka digunakan untuk membedakan antara genus *Erwinia* dan *Pantoea*. Jika dilakukan dalam kondisi aerob maka digunakan mengetahui kelompok bakteri Xantomonadin.

Uji Hipersensitif. Uji hipersensitif ini dilakukan untuk menduga apakah suatu bakteri mempunyai kemungkinan bersifat sebagai patogen. Uji ini dilakukan dengan menggunakan tanaman tembakau yang dilukai pada bagian daunnya dengan jarum suntik, lalu diinokulasikan suspensi bakteri sebanyak 1 ml. Isolat bakteri yang mengakibatkan nekrosis pada daun tembakau diduga bersifat patogen pada tanaman.

3.4 Analisis Data

Data yang diperoleh dari pengamatan *in vitro* dan *in vivo* dianalisis secara statistik dengan ANOVA dan apabila perlakuan menunjukkan pengaruh nyata maka akan dilanjutkan dengan uji Duncan dengan tingkat kepercayaan 95%.

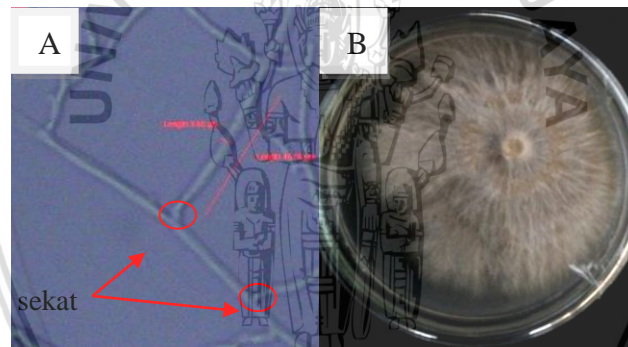
I. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolasi Jamur *Rhizoctonia solani*

Isolat jamur *R. solani* diperoleh dengan melakukan isolasi pada tanaman padi yang menunjukkan gejala hawar pelepah padi. Isolat jamur yang telah tumbuh kemudian diidentifikasi untuk mengetahui karakteristiknya. Karakteristik jamur hasil survei dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 3. Kenampakan jamur *R.solani*

Isolat	Makroskopis		Mikroskopis			Ada tidaknya Sekat
	Warna Miselium	Tekstur Miselium	Warna Hifa	Panjang Ruas	Lebar Ruas	
Hasil survei	Cokelat	Kasar	Hialin	45,30 μm	3,85 μm	Bersekat



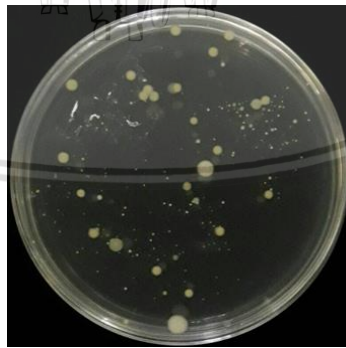
Gambar 5. kenampakan jamur hasil survei. (a: Hifa jamur, b: miselium jamur *R. solani* berumur 7 hst)

Berdasarkan hasil pengamatan menunjukkan bahwa jamur yang didapatkan memiliki kenampakan makroskopis meliputi warna miselium putih dan memiliki kecenderungan berubah warna menjadi coklat-kemerahan, pola penyebaran konsentris, serta memiliki tekstur yang kasar. Hasil pengamatan menunjukkan kenampakan mikroskopis jamur tersebut meliputi hifa hialin, hifa yang bersekat, sudut percabangan hifa yang hampir tegak lurus, tidak adanya konidia, serta sekat pada hifa yang terletak di dekat percabangan.

Berdasarkan hasil pengamatan, karakteristik jamur tersebut sesuai dengan Barnett dan Hunter (1998), yang menyatakan bahwa jamur *R. solani* tidak menghasilkan konidia, hifa hialin, dan bercabang. Menurut Schumann dan D'Arcy (2006) jamur *R. solani* memiliki karakteristik yang khas pada bagian hifanya, yaitu sudut percabangan antara hifa hampir tegak lurus dan membentuk sudut 90° . Menurut Muhibbudin (2014) karakteristik pada jamur *R. solani* adalah sekat yang terletak dekat percabangan hifa dan juga jamur *R. solani* tidak memproduksi konida. Berdasarkan hasil identifikasi dan perbandingan karakteristik jamur, dapat dipastikan bahwa jamur yang didapatkan merupakan jamur *R. solani*.

4.2 Hasil Eksplorasi dan Seleksi Bakteri Filosfer Sebagai Agens Antagonis Terhadap Jamur *R. solani*

Hasil eksplorasi bakteri filofosfer dari tumbuhan rumput di UB Forest diperoleh sebanyak 32 isolat bakteri. Isolat bakteri yang didapat memiliki bentuk koloni yang berbeda-beda meliputi warna, elevasi, serta tepian koloni. Koloni bakteri menunjukkan karakter dari suatu bakteri, sehingga bakteri dengan bentuk koloni yang berbeda, dapat diduga juga berbeda jenisnya. Menurut Lay (1994) berdasarkan bentuk koloni bakteri, dapat dilakukan identifikasi untuk menentukan jenis suatu bakteri, namun untuk identifikasi lebih lanjut perlu dilakukan identifikasi fisiologi biokimia.



Gambar 6. Hasil pengenceran bakteri filofosfer (pengenceran 10^{-7} cfu/ml)

Isolat bakteri yang telah didapat kemudian diseleksi sifat antagonisnya dengan metode *dual culture* pada media PDA. Hasil seleksi menunjukkan bahwa 23 isolat mampu mengambat pertumbuhan jamur *R. solani* dengan tingkat penghambatan yang berbeda. Bakteri filofosfer yang diseleksi menunjukkan perbedaan dalam menghambat

pertumbuhan jamur *R.solani*, yang diakibatkan perbedaan senyawa yang dikeluarkan oleh bakteri tersebut. Bakteri dengan kemampuan menghambat pertumbuhan jamur *R.solani* diduga mampu menghasilkan senyawa *antifungal* maupun senyawa antibiotik yang berperan penting dalam penghambatan pertumbuhan jamur. Menurut Steller *et al* (1999), beberapa bakteri seperti *Bacillus subtilis* mampu menghasilkan senyawa fengycin yang berperan sebagai *antimikrobia*. Menurut Ranjbariyan (2014) *Pseudomonas chlororaphis* mampu menghasilkan senyawa *phenazine* yang merupakan metabolit sekunder dan berperan sebagai *antifungal*.

Beberapa isolat bakteri terbaik berdasarkan hasil seleksi mengalami kontaminasi, sehingga tidak dapat digunakan. Lima isolat terpilih yakni F8, F16, F17, F24, dan F30 akan digunakan untuk pengujian *in vitro* maupun *in vivo*. Persentase zona hambat bakteri filofser terhadap jamur *R.solani* dapat dilihat pada table berikut:

Tabel 4. Hasil seleksi bakteri filofser

Kode Isolat	Daya Hambat	Kode Isolat	Daya Hambat
F1	62,2 %	F17*	63,7 %
F2	53,3 %	F18	0 %
F3	53,3 %	F19	0 %
F4	55,5 %	F20	62,2 %
F5	0 %	F21	0 %
F6	0 %	F22	44,4 %
F7	0 %	F23	53,3 %
F8*	57,8 %	F24*	55,5 %
F9	55,5 %	F25	53,3 %
F10	60 %	F26	48,9 %
F11	51,1 %	F27	46,7 %
F12	37,8 %	F28	51,1 %
F13	68,9 %	F29	53,3 %
F14	0 %	F30*	55,5 %
F15	0 %	F31	33,3 %
F16*	62,2 %	F32	46,7 %

Keterangan : Kode isolat yang diberi tanda (*) merupakan isolat yang akan digunakan untuk pengujian pada tingkat *in vitro* dan *in vivo*

4.3 Persentase Penghambatan Jamur *R. solani* oleh Bakteri Filofser secara *in vitro*

Hasil analisis ragam (tabel lampiran 1), menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* secara

in vitro. Persentase penghambatan pertumbuhan jamur *R. solani* secara *in vitro* dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 5. Rerata persentase penghambatan bakteri filosfer terhadap jamur *R.solani* secara *in vitro*.

Kode isolat	Persentase daya hambat (%) pada jam setelah tanam (jst)			
	48	72	96	120
F 8	30,77 ^a	43,48 ^{ab}	56,73 ^b	58,33 ^b
F 16	36,40 ^{ab}	35,48 ^a	39,42 ^a	45 ^a
F 17	43,68 ^{bc}	48,55 ^{ab}	59,61 ^b	59,17 ^b
F 24	50,82 ^c	54,94 ^{bc}	62,50 ^{bc}	70 ^c
F 30	49,20 ^c	48,54 ^{ab}	60,58 ^b	50 ^a
Kontrol fungisida	52,60 ^c	66,49 ^c	73,08 ^c	71,67 ^c

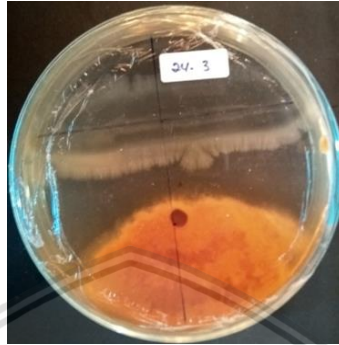
Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Hasil analisis ragam (lampiran 1) pada 48, 72, 96 dan 120 jst menunjukkan bahwa seluruh isolat berpengaruh nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *R.solani* pada tingkat *in vitro*. Pada pengamatan 48 jst perlakuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* adalah perlakuan kontrol postif dengan menggunakan fungisida serta perlakuan bakteri antagonis dengan kode isolat F17, F24, dan F30. Pengamatan pada 72 jst, 96 jst, dan 120 jst menunjukkan perlakuan terbaik dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* adalah perlakuan kontrol postif dengan menggunakan fungisida serta perlakuan bakteri antagonis dengan kode isolat F24.

Berdasarkan tabel dapat dilihat bahwa perlakuan dengan kontrol fungisida mengalami kenaikan daya hambat pada pengamatan 48 jst, 72 jst dan 96 jst, namun mengalami penurunan pada pengamatan 120 jst. Daya hambat yang menurun pada perlakuan menggunakan fungisida menunjukkan adanya indikasi bahwa jamur *R. solani* dapat tumbuh pada media yang terdapat fungisida. Menurut Deising *et al* (2008) penggunaan fungisida dapat menyebabkan resistensi pada jamur, ditandai dengan pertumbuhan jamur pada media dengan penambahan fungisida..

Perlakuan bakteri antagonis menunjukkan peningkatan daya hambat dimulai dari 48 jst sampai 120 jst. Daya hambat yang meningkat menunjukkan bahwa bakteri mampu menghambat pertumbuhan jamur dan tidak membuat jamur tersebut menjadi kebal. Menurut Gerbore *et al* (2013) penggunaan agens antagonis memiliki beberapa

manfaat, salah satunya adalah kemampuan untuk beradaptasi dengan patogen target. Kemampuan adaptasi ini yang membuat tidak timbulnya resistensi pada patogen sasaran.



Gambar 7. Hasil uji *in vitro* (Isolat F24 pada 120 jst)

4.4 Rerata Tinggi Tanaman Padi

Hasil analisis ragam (tabel lampiran 2), menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman padi. Rerata tinggi tanaman padi dapat dilihat pada table berikut:

Tabel 6. Rerata tinggi tanaman padi

Perlakuan	Rerata tinggi tanaman pada hari setelah inokulasi (hsi)			
	5	10	15	20
F 8	22,42 ^a	24,82 ^a	27,12 ^a	29,20 ^a
F 16	21,50 ^a	23,44 ^a	24,67 ^a	27,09 ^a
F 17	22,07 ^a	25,20 ^a	27,52 ^a	29,67 ^a
F 24	21,49 ^a	24,72 ^a	26,99 ^a	29,70 ^a
F 30	21,96 ^a	25,05 ^a	26,42 ^a	29,72 ^a
Kontrol aquades	21,90 ^a	24,22 ^a	25,81 ^a	27,06 ^a
Fungisida	21,22 ^a	23,72 ^a	25,34 ^a	27,31 ^a

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

Rerata tinggi tanaman padi diamati pada 5 hsi, 10 hsi, 15 hsi, dan 20 hsi. Berdasarkan pengamatan yang dilakukan bahwa perendaman benih padi dengan suspensi bakteri antagonis tidak memberikan pengaruh nyata, baik antar perlakuan bakteri maupun terhadap kontrol aquades. Bakteri mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman karena memiliki kemampuan untuk menghasilkan hormon tumbuh, sedangkan isolat bakteri yang digunakan sebagai perlakuan diduga tidak

mampu untuk menghasilkan hormon tumbuh bagi tanaman, sehingga tidak memberikan pengaruh nyata terhadap parameter tinggi tanaman. Menurut Kloepper (1992) dan Schroth (1978) bakteri dapat meningkatkan tinggi tanaman dikarenakan mampu untuk menghasilkan hormon auksin dan sitokinin yang mampu untuk meningkatkan tinggi tanaman.

4.5 Persentase Keparahan Penyakit Hawar Pelepah Padi secara in vivo

Hasil analisis ragam (tabel lampiran 3), menunjukkan bahwa perlakuan bakteri antagonis tidak berpengaruh nyata dalam menekan perkembangan penyakit hawar pelepah padi. Persentase penekanan penyakit hawar pelepah padi dapat dilihat pada table berikut:

Tabel 7. Persentase keparahan penyakit hawar pelepah daun padi

Perlakuan	Persentase keparahan penyakit (%) pada hari setelah inokulasi (hsi)			
	5	10	15	20
F 8	7,42 ^a	12,39 ^a	17,06 ^a	18,88 ^{ab}
F 16	7,01 ^a	13,49 ^a	18,50 ^a	19,68 ^b
F 17	6,25 ^a	12,70 ^a	17,42 ^a	19,43 ^b
F 24	8,31 ^a	10,54 ^a	18,43 ^a	18,30 ^{ab}
F 30	6,66 ^a	12,22 ^a	18,25 ^a	18,99 ^{ab}
Kontrol aquades	7,77 ^a	13,80 ^a	19,16 ^a	19,19 ^b
Kontrol fungisida	8,05 ^a	12,18 ^a	16,88 ^a	16,88 ^a

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

Persentase keparahan penyakit hawar pelepah daun padi dihitung pada saat 5 hsi, 10 hsi, 15 hsi, dan 20 hsi. Berdasarkan hasil pengamatan pada 5 hsi, 10 hsi, dan 15 hsi, tidak menunjukkan perbedaan yang nyata antar perlakuan. Persentase keparahan penyakit hawar pelepah padi pada 20 hsi tidak menunjukkan perbedaan nyata antar perlakuan bakteri antagonis terhadap kontrol aquades, namun pada perlakuan kontrol fungisida menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap kontrol aquades. Bakteri antagonis yang digunakan belum mampu untuk menekan keparahan penyakit hawar pelepah daun padi. Perlakuan yang tidak berpengaruh nyata diduga disebabkan karena bakteri antagonis tidak mampu untuk menginduksi ketahanan sistemik pada

tanaman uji terhadap penyakit hawar pelepah padi. Menurut Hoerussalam (2013) bakteri dapat menginduksi ketahanan sistemik pada tanaman jika ada kompatibilitas antara bakteri dan tanaman. Kompatibilitas antara bakteri antagonis dan tanaman uji meningkatkan kandungan asam salisilat pada tanaman yang berperan dalam meningkatkan ketahanan tanaman terhadap penyakit. Teknik aplikasi bakteri antagonis juga diduga berkaitan dengan kemampuan bakteri antagonis dalam menekan suatu penyakit. Menurut Kanjanamaneesathian (1994) teknik aplikasi bakteri mempengaruhi kemampuan bakteri dalam menekan penyakit tanaman.

4.6 Karakterisasi Bakteri Filosfer

4.6.1 Karakterisasi Morfologi

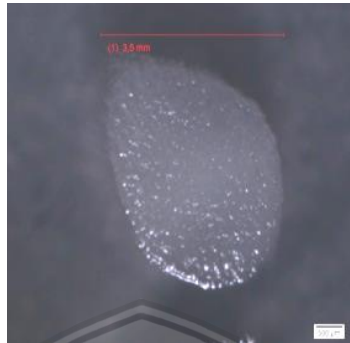
Karakterisasi morfologi bakteri filofosfer dilakukan dengan mengamati koloni tunggal (gambar lampiran 5) dan bentuk sel dari bakteri tersebut. Pengamatan morfologi dilakukan untuk mengetahui karakteri koloni bakteri. Pengamatan morfologi juga dilakukan dengan mengamati bentuk sel dari bakteri tersebut. Pengamatan koloni bakteri meliputi warna koloni, bentuk koloni, elevasi koloni, permukaan koloni, tepi koloni, dan bentuk sel bakteri. Pengamatan sel bakteri meliputi bentuk sel bakteri tersebut. Hasil karakterisasi koloni bakteri filofosfer dapat dilihat pada table berikut:

Tabel 8. Karakteristik morfologi bakteri filofosfer

Isolat	Warna	Bentuk Koloni	Elevasi	Tepi	Permukaan	Bentuk sel
F8	Kuning	Bulat	Cembung	Rata	Mengkilap	Batang
F16	Putih	Tidak Teratur	Datar	Tidak rata	Kasar	Batang
F17	Kuning	Bulat	Cembung	Rata	Mengkilap	Batang
F24	Kuning	Bulat	Cembung	Rata	Mengkilap	Batang
F30	Kuning	Bulat	Cembung	Rata	Mengkilap	Batang

Berdasarkan tabel isolat F8, F17, F24 dan F30 memiliki karakter koloni seperti warna, bentuk, elevasi, tepi, dan permukaan yang hampir identik. Isolat F16 memiliki karakter koloni yang berbeda dari isolat F8, F17, F24, dan F30. Perbedaan koloni diduga dipengaruhi oleh jenis Gram dan jenis spesies dari bakteri tersebut (Lay, 1994). Isolat F8, F17, F24, dan F30 memiliki kemiripan karakter koloni nya, sedangkan

isolat F16 memiliki karakter koloni yang berbeda. Karakter koloni bakteri dapat digunakan untuk tahapan karakterisasi bakteri.



Gambar 8. Bentuk koloni bakteri filofser. (Isolat F16)

4.6.2 Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia bakteri filofser dilakukan berdasarkan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (1994) dan Schaad (2001). Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri filofser disajikan pada tabel berikut:

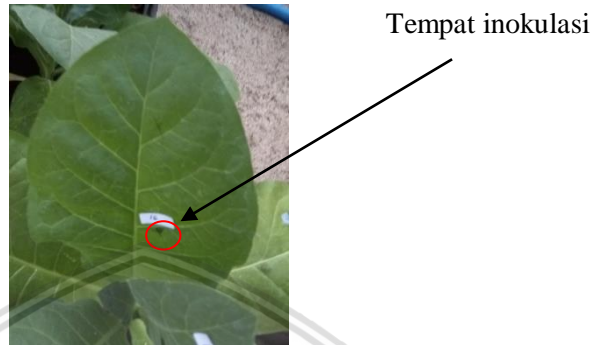
Tabel 9. Karakteristik fisiologi-biokimia bakteri filofser

Karakteristik	Isolat				
	F8	F16	F17	F24	F30
Uji Hipersensitif	-	-	-	-	-
Uji Pewarnaan Gram	-	+	-	-	-
Uji Katalase	+	+	+	+	+
Uji KOH 3%	+	-	+	+	+
Uji Oksidatif Fermentatif	F	F	O	O	O
Uji Pewarnaan Spora	TU	+	TU	TU	TU
Uji Pigmen Fluoroscens pada Media King's B	-	TU	+	+	-
Uji Koloni Kuning pada YDC	+	-	-	-	-

Keterangan : Karakteristik fisiologi dan biokimia bakteri filofser. (-) : reaksi negatif; (+) : reaksi positif; (TU) : tidak dilakukan uji; (F) : Fermentatif; (O) : Oksidatif

Uji Hipersensitif. Pengujian ini dilakukan pada tanaman tembakau (gambar lampiran 2), untuk mengetahui apakah suatu bakteri bersifat patogen atau tidak. Hasil pengujian terhadap lima isolat bakteri filofser menunjukkan bahwa seluruh isolat

yang diujikan tidak menyebabkan gejala nekrotik setelah diinokulasikan pada tanaman tembakau.

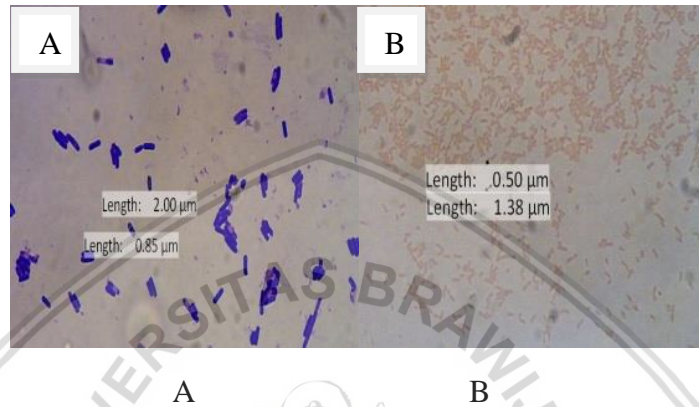


Gambar 9. Uji Hipersensitif. (Isolat F8 tidak menunjukkan gejala nekrotik, pada 4 hsi)

Gejala nekrotik penting untuk diperhatikan karena menjadi indikator apakah suatu bakteri bersifat patogen pada tanaman atau tidak. Tanaman tembakau akan memberikan respon cepat pada bakteri yang bersifat patogen dengan mematikan selnya pada tempat inokulasi bakteri. Menurut Agrios (2005), tidak adanya gejala nekrotik setelah diinokulasikan bakteri, menandakan bakteri tersebut tidak bersifat patogen tanaman.

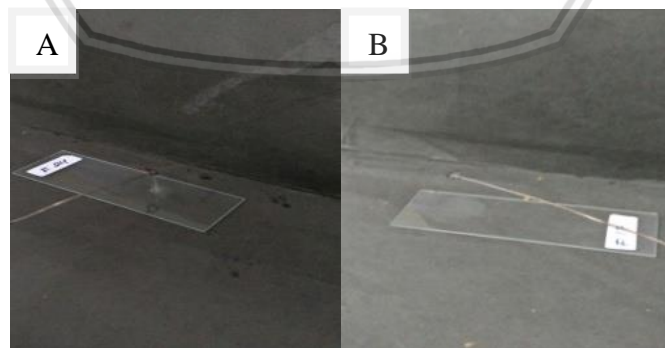
Uji Pewarnaan Gram. Hasil uji pewarnaan Gram (gambar lampiran 6) menunjukkan bahwa 4 isolat yaitu F8, F17, F24, dan F30 menunjukkan sel berwarna merah dan 1 isolat yaitu F16 menunjukkan warna ungu. Warna sel merah menunjukkan bahwa isolat F8, F17, F24, F30 termasuk bakteri Gram negatif, sedangkan warna sel ungu pada isolat F16 menunjukkan bakteri tersebut termasuk Gram positif. Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun dari peptidoglikan yang lebih tipis daripada bakteri Gram positif. Peptidoglikan yang tipis akan membuat bakteri Gram negatif dengan mudah kehilangan warna ungu dari kristal violet setelah dicuci dengan alkohol. Pada saat pemberian warna merah safranin, dinding sel bakteri Gram negatif akan menyerap warna tersebut, sehingga saat diamati dengan mikroskop sel bakteri Gram negatif akan berwarna merah. Bakteri Gram positif yang memiliki

peptidoglikan yang lebih tebal tidak akan kehilangan warna ungu akibat pencucian dengan alkohol karena warna ungu masih tertahan pada dinding sel bakteri. Pada saat pemberian warna merah safranin, dinding sel bakteri Gram positif yang masih terdapat warna ungu tidak akan menyerap warna tersebut, sehingga pada saat diamati dengan mikroskop bakteri Gram positif tetap berwarna ungu.



Gambar 10. Pewarnaan Gram. (a: Isolat F16 memiliki sel berwarna ungu, b: Isolat F8 memiliki sel berwarna merah).

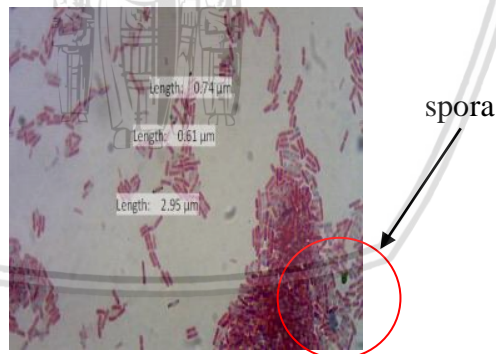
Uji KOH 3%. Hasil uji KOH 3% (gambar lampiran 3) menunjukkan bahwa 4 isolat yaitu F8, F17, F24, dan F30 ketika dicampur dengan KOH 3% menghasilkan benang lendir, sedangkan isolat F16 tidak menghasilkan benang lendir. Bakteri yang menghasilkan benang lendir merupakan bakteri Gram negatif, sedangkan bakteri yang tidak menghasilkan benang lendir termasuk bakteri Gram positif.



Gambar 11. Uji KOH. (a: Isolat F24 membentuk benang lendir. b: Isolat F16 tidak membentuk benang lendir)

Benang lendir yang terbentuk pada pengujian KOH 3% diakibatkan oleh komponen penyusun dinding sel bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram negatif tersusun dari peptidoglikan yang tipis, sehingga saat dicampurkan dengan cairan KOH, dinding sel akan rusak, dan melepaskan DNA yang akan terlihat seperti benang lendir. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tersusun atas peptidoglikan yang lebih tebal ketika dicampur dengan KOH 3% dinding sel tidak akan rusak, sehingga benang lendir tidak akan terbentuk (Suslow *et al.*, 1982).

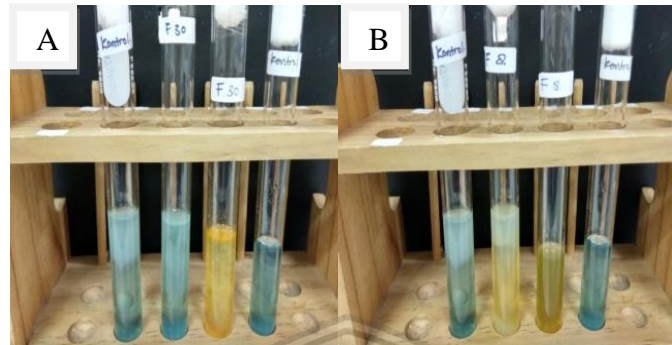
Uji Pewarnaan Spora. Hasil uji pewarnaan spora menunjukkan bahwa isolat F16 menghasilkan endospora, ditandai dengan adanya spora berwarna hijau pada sel bakteri. Spora berwarna hijau diakibatkan pewarnaan *malachite green*. Spora merupakan bentuk pertahanan bakteri dari kondisi ekstrim, sehingga spora memiliki selubung yang keras dan tebal (Sunatmo, 2007). Menurut Hadioetomo (1993) spora bakteri sulit melepaskan zat warna, walaupun sudah dibilas. Mengacu pada Sunatmo (2007) selubung yang keras dan tebal menjadi penyebab spora sulit melepaskan zat warna, sehingga pada saat diberi larutan safranin, hanya sel vegetatif bakteri yang menyerap safranin sehingga sel berwarna merah, sedangkan spora tetap berwarna hijau.



Gambar 12. Uji pewarnaan spora. (Isolat F16 menghasilkan spora).

Uji Oksidatif-Fermentatif. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah suatu bakteri bersifat oksidatif atau fermentatif. Hasil uji Oksidatif-Fermentatif (gambar lampiran 4) menunjukkan bahwa isolat F8 dan F16 bersifat anaerob fakultatif karena dapat merubah warna media yang ditutup agar maupun tanpa agar dari biru menjadi kuning. Isolat bakteri F17, F24, dan F30 menunjukkan bahwa ketiga bakteri tersebut bersifat aerob, karena perubahan warna media terjadi pada

media yang tidak ditutup oleh agar, sedangkan media yang ditutup agar tidak mengalami perubahan warna.



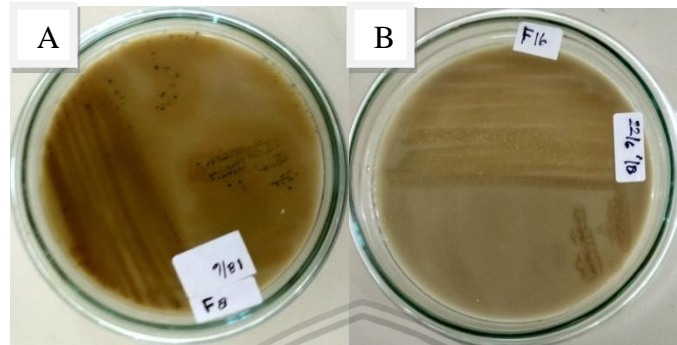
Gambar 13. Pengujian Oksidatif-Fermentatif. (a: Isolat F30 bersifat aerob, b: Isolat F8 bersifat anaerob fakultatif)

Perubahan warna media dari biru menjadi kuning pada media yang ditutup agar, diakibatkan oleh kemampuan bakteri untuk memanfaatkan glukosa pada media dan melakukan metabolisme secara fermentatif pada kondisi anaerob. Perubahan warna media menjadi kuning merupakan tanda bahwa terjadi penurunan pH media menjadi asam yang diakibatkan proses metabolisme (Anggraini *et al.*, 2016).

Uji Katalase. Hasil uji katalase (gambar lampiran 7) menunjukkan bahwa seluruh isolat bakteri antagonis menunjukkan reaksi positif ketika dicampur dengan H_2O_2 (Hidrogen Peroksida), yakni seluruh isolat mampu menghasilkan enzim katalase dan dapat memecah H_2O_2 menjadi H_2O (Air) dan O_2 (Oksigen), dan ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung buih.

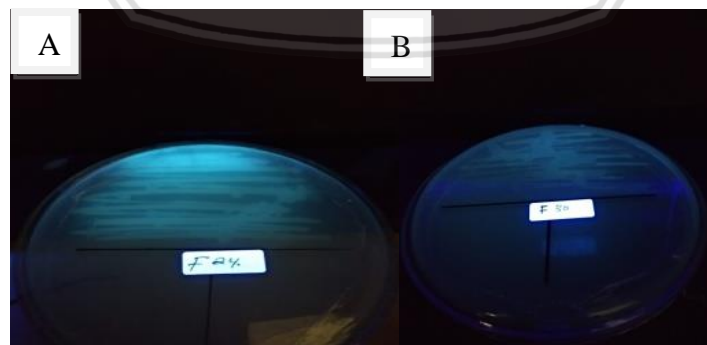
Uji Koloni Kuning pada Media YDC. Pengujian ini dilakukan pada isolat Gram negatif yang memiliki sifat anaerob fakultatif untuk mengetahui genus dalam famili *Enterobacteriaceae*. Pengujian hanya dilakukan pada isolat F8, karena dari keempat isolat Gram negatif (F8, F17, F24, dan F30) hanya isolat F8 yang memiliki sifat anaerob fakultatif. Pengujian ini dilakukan untuk menentukan genus bakteri tersebut berdasarkan warna koloni yang muncul saat ditumbuhkan pada media YDC. Hasil pengujian menunjukkan bahwa pada saat isolat F8 ditumbuhkan pada media YDC, koloni bakteri tumbuh berwarna kuning. Menurut Schaad (2001) koloni

berwarna kuning pada media YDC merupakan indikator pembeda antara genus *Pantoea* dan *Erwinia*.



Gambar 14. Koloni kuning pada media YDC. (a: Isolat F8 memiliki koloni berwarna kuning, b: Isolat F16 memiliki koloni berwarna putih).

Uji Pigmen Fluorescens. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui apakah suatu bakteri dapat menghasilkan pigmen fluorescens atau tidak. Hasil uji pigmen fluorescens menunjukkan bahwa isolat F17 dan F24 saat ditumbuhkan pada media King's B dan diamati dibawah sinar UV mampu menghasilkan pigmen fluorescens, ditandai dengan bakteri yang berpendar, dan berwarna hijau menyala. Pigmen fluorescens muncul sebagai indikator bahwa bakteri yang termasuk *Pseudomonas fluorescens*. Pigmen *fluorescens* muncul akibat adanya senyawa antibiotik, meliputi pyoverdin, pyrrolnitrin, dan pyoluteorin yang dihasilkan oleh bakteri *Pseudomonas fluorescens* (Susanna, 2000).



Gambar 15. Uji pigmen Fluorescens. (a: Isolat F24 berpendar, b: Isolat F30 tidak berpendar)

4.7 Identifikasi Bakteri Antagonis

Isolat F8. Isolat F8 merupakan bakteri Gram negatif dan termasuk dalam Famili *Enterobacteriaceae*, dan genus *Pantoea*. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi, isolat F8 diketahui memiliki bentuk sel batang, warna koloni kuning, bentuk koloni bulat, elevasi *cembung*, tepi koloni rata, dan permukaan mengkilap. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat F8 memiliki sel berwarna merah saat diamati dibawah mikroskop, memiliki sifat anaerob fakultatif, mampu menghasilkan enzim katalase dan memiliki koloni berwarna kuning pada media YDC. Menurut Holt *et al* (1994), bakteri dalam Famili *Enterobacteriaceae* merupakan bakteri Gram negatif dengan bentuk sel batang, memiliki sifat anaerob fakultatif, serta mampu menghasilkan enzim katalase. Schaad (2001) menambahkan perbedaan antara genus *Pantoea* dengan genus lainnya adalah memiliki koloni berwarna kuning saat ditumbuhkan pada media YDC.

Isolat F16. Isolat F16 merupakan bakteri Gram positif dan termasuk dalam genus *Bacillus*. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi, isolat F16 diketahui memiliki bentuk sel batang, warna koloni putih, bentuk koloni tidak beraturan, elevasi datar, tepi koloni tidak rata, dan permukaan kasar. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat F16 memiliki sel berwarna ungu saat diamati dibawah mikroskop, memiliki endospora, mampu menghasilkan enzim katalase dan memiliki sifat anaerob fakultatif. Menurut Holt *et al* (1994), bakteri genus *Bacillus* merupakan bakteri Gram positif dengan bentuk sel batang, menghasilkan endospora, dan memiliki sifat anaerob fakultatif. Pelczar (1976) menambahkan bahwa sifat dari *Bacillus* yaitu bereaksi positif terhadap H_2O_2 karena menghasilkan enzim katalase.

Isolat F17. Isolat F17 merupakan bakteri Gram negatif dan termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi, isolat F17 diketahui memiliki bentuk sel batang, warna koloni kuning, bentuk koloni bulat, elevasi *cembung*, tepi koloni rata, dan permukaan mengkilap. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat F17 memiliki sel berwarna merah saat diamati dibawah mikroskop, memiliki sifat aerob, dan menghasilkan pigmen

fluorescens. Menurut Holt *et al* (1994), bakteri genus *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram negatif, memiliki sifat aerob, serta mampu menghasilkan enzim katalase. Bakteri dalam genus *Pseudomonas* memiliki karakteristik khusus yaitu mampu menghasilkan pigmen fluorescens (Susanna, 2000).

Isolat F24. Isolat F24 merupakan bakteri Gram negatif dan termasuk dalam genus *Pseudomonas*. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi, isolat F24 diketahui memiliki bentuk sel batang, warna koloni kuning, bentuk koloni bulat, elevasi cembung, tepi koloni rata, dan permukaan mengkilap. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat F17 memiliki sel berwarna merah saat diamati dibawah mikroskop, memiliki sifat aerob, dan menghasilkan pigmen fluorescens. Menurut Holt *et al* (1994), bakteri genus *Pseudomonas* merupakan bakteri Gram negatif, memiliki sifat aerob, serta mampu menghasilkan enzim katalase. Bakteri dalam genus *Pseudomonas* memiliki karakteristik khusus yaitu mampu menghasilkan pigmen fluorescens (Susanna, 2000).

Isolat F30. Isolat F30 merupakan bakteri Gram negatif dan termasuk dalam genus *Xanthomonas*. Berdasarkan hasil karakterisasi morfologi, isolat F30 diketahui memiliki warna koloni kuning, bentuk koloni bulat, elevasi cembung, tepi koloni rata, dan permukaan mengkilap. Hasil karakterisasi fisiologi dan biokimia menunjukkan bahwa isolat F30 memiliki sel berwarna merah saat diamati dibawah mikroskop, memiliki sifat aerob. Menurut Holt *et al* (1994), bakteri genus *Xanthomonas* merupakan bakteri Gram negatif, memiliki sifat aerob, serta bereaksi positif terhadap uji katalase, karena menghasilkan enzim katalase.

4.8 Pembahasan Umum

Berdasarkan hasil uji *in vitro*, lima isolat bakteri terpilih diketahui mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dan berpengaruh nyata terhadap kontrol fungisida.. Kemampuan isolat dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* pada setiap isolat berbeda, hal ini disebabkan oleh genus bakteri yang didapatkan. Bakteri dapat menghasilkan metabolit sekunder yang berbeda-beda, tergantung pada spesies bakteri tersebut. Metabolit sekunder yang dihasilkan berperan sebagai bentuk perlindungan dan pertahanan terhadap organisme lain, dapat berupa bakteri, jamur

ataupun organisme lain. Menurut Gokulan (2014) metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri berkaitan dengan adaptasi fisiologis dan biokimia bakteri tersebut, sehingga senyawa yang dihasilkan akan berbeda juga pada tiap bakteri. Nilai rata-rata penghambatan tertinggi ditunjukkan oleh isolat F24, kemudian diikuti oleh isolat F17, F30, F8 dan F16.

Isolat F17 dan F24 termasuk genus *Pseudomonas fluorescens*. *P. fluorescens* telah banyak dikenal dengan kemampuannya sebagai agens antagonis dalam mengendalikan patogen tanaman, baik bakteri maupun jamur. Berdasarkan hasil uji *in vitro* menunjukkan terbentuknya zona hambat antara miselium jamur dan isolat bakteri F24. Zona hambat yang dihasilkan diduga terbentuk karena adanya senyawa atau metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*. Menurut Susanna (2000) *P. fluorescens* dapat menghasilkan senyawa antibiotik seperti pyoverdin, pyrrolnitrin, dan pyoluteorin yang dapat berperan sebagai antifungal maupun anti bakteri. Perbedaan yang ditimbulkan diduga disebabkan oleh perbedaan strain bakteri maupun perbedaan konsentrasi metabolit sekunder yang dihasilkan. *P. fluorescens* selain mampu menghasilkan senyawa antibiotik, juga mampu untuk menghasilkan senyawa siderofor. Siderofor merupakan senyawa yang dapat mengkelat unsur Fe sehingga menjadi tidak tersedia bagi jamur patogen, dan mengakibatkan terganggunya proses patogenesis, serta virulensi dari jamur tersebut (Ding *et al.*, 2014). Beberapa spesies *Pseudomonas* sp. diketahui mampu untuk menekan pertumbuhan jamur *Rigidoporus lignosus* (Hasanuddin, 2011).

Isolat F30 diketahui termasuk bakteri genus *Xanthomonas*. Bakteri dalam genus *Xanthomonas* umumnya dikenal sebagai patogen tanaman, Holt *et al.*, (1994) juga menyatakan bahwa pada umumnya bakteri dalam genus *Xanthomonas* patogen, meliputi *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas oryzae* pv *oryzae* serta spesies lainnya. Berdasarkan hasil uji hipersensitif, inokulasi isolat F30 tidak menimbulkan gejala nekrotik pada tanaman tembakau, dan pada uji *in vitro* isolat F30 mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*. Isolat F30 diduga mampu menghasilkan senyawa antifungal yang dapat menghambat pertumbuhan jamur. Menurut Vauterin

(1996), beberapa strain dari genus *Xanthomonas* tidak bersifat patogen terhadap tanaman, dan mampu berasosiasi dengan tanaman. Strain yang bersifat non-patogen telah dikonfirmasi memiliki karakteristik yang sama, serta susunan asam amino dan protein yang sama dengan genus *Xanthomobas* lainnya (Vauterin, 1996).

Isolat F8 diketahui termasuk bakteri genus *Pantoea*. Beberapa spesies dalam genus *Pantoea* berperan sebagai patogen seperti *Pantoea stewartii* (Holt *et al.*, 1994), namun beberapa spesies seperti *Pantoea agglomerans* juga diketahui berperan sebagai antagonis terhadap pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* (Parwati, 2014). Kemampuan sebagai antagonis terhadap pertumbuhan jamur diakibatkan oleh kemampuan bakteri dalam menghasilkan metabolit sekunder yang bersifat antifungal.

Isolat F16 diketahui termasuk bakteri genus *Bacillus*. Beberapa spesies dalam genus *Bacillus* diketahui sebagai agens antagonis seperti *Bacillus subtilis*. Selain sebagai agens antagonis, beberapa bakteri dalam genus *Bacillus* seperti *Bacillus thuringiensis* juga berperan sebagai patogen serangga. *Bacillus* mampu menghasilkan senyawa yang bersifat antifungal. Menurut Fiddaman dan Rossall (1993), antifungal yang dihasilkan oleh *Bacillus* selain mampu untuk mendegradasi, juga dapat menghambat pertumbuhan dan perkecambahan spora jamur. Beberapa spesies *Bacillus* sp. diketahui mampu menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) (Hadiwiyono, 2013).

Lima isolat bakteri terpilih yang digunakan untuk menekan perkembangan penyakit secara *in vivo* diketahui belum mampu untuk memberikan pengaruh nyata terhadap kontrol negatif. Faktor lingkungan diduga membuat seluruh isolat tidak mampu untuk memberikan pengaruh nyata. Bakteri antagonis membutuhkan lingkungan yang sesuai untuk dapat berkembang dan melakukan kolonisasi pada tanaman inang. Bakteri antagonis yang berkembang dengan baik pada lingkungan yang sesuai akan mampu untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat bersifat fungitoksik. Menurut Martin (1996) bakteri awalnya berinteraksi dengan tanaman diluar sel, kemudian akan berlanjut kedalam jaringan tanaman, sehingga mampu untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen. Kesesuaian lingkungan juga diduga dapat mempengaruhi konsentrasi metabolit sekunder yang dihasilkan

oleh bakteri antagonis. Setiap bakteri memerlukan metabolit sekunder dalam konsentrasi agar dapat bersifat antifungal. Parwati (2014) dan Suryadi (2015) mengemukakan bahwa diperlukan konsentrasi tertentu dari metabolit sekunder bakteri antagonis agar dapat bersifat fungitoksik. Bakteri *Pantoea agglomerans* membutuhkan metabolit sekunder dengan konsentrasi 25%-50% agar dapat bersifat fungitoksik (Parwati, 2014). Faktor lain yang berperan penting dalam peningkatan ketahanan tanaman adalah kompatibilitas antara tanaman dan agens antagonis yang digunakan. Kompatibilitas yang terjadi akan menyebabkan terbentuknya mekanisme ketahanan sistemik yang diinduksi oleh bakteri antagonis. Menurut Hoerussalam (2013) salah satu indikator terjadi mekanisme ketahanan sistemik adalah dengan terbentuk senyawa peroksidase yang berperan dalam memperkuat dinding sel terhadap enzim yang dihasilkan oleh patogen.

Perbedaan kemampuan menghambat pada tingkat *in vitro* dan *in vivo* tidak berbanding lurus. Pada pengujian *in vitro* menunjukkan bahwa setiap perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap kontrol aquades, namun pada pengujian *in vivo* setiap perlakuan tidak mampu untuk memberikan pengaruh nyata. Hasil yang berbeda antara uji *in vitro* dan uji *in vivo* diduga dipengaruhi oleh lingkungan dan teknik aplikasi bakteri antagonis. Kondisi lingkungan laboratorium yang lebih terkontrol diduga menyebabkan bakteri dapat lebih optimal dalam menghasilkan metabolit sekunder, sedangkan kondisi yang heterogen pada pengujian *in vivo* menjadi faktor yang perlu diperhatikan sebagai alasan perbedaan hasil antara uji *in vitro* dan *in vivo*. Faktor lain yang mempengaruhi diduga disebabkan oleh metode aplikasi bakteri antagonis. Metode perendaman benih yang dilakukan pada uji *in vivo* diduga sebagai faktor yang menyebabkan perlakuan bakteri antagonis tidak berpengaruh nyata. Teknik aplikasi dengan perendaman benih, bakteri antagonis tidak dihadapkan langsung dengan jamur *R. solani*, berbeda dengan metode kultur ganda pada uji *in vitro* yang mana antara bakteri antagonis dan jamur *R. solani* langsung berhadapan pada saat yang sama. Menurut Kanjanamaesathian (1994) bahwa metode aplikasi bakteri antagonis berpengaruh pada kemampuan bakteri dalam menekan penyakit.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Pada permukaan daun tumbuhan rumput di UB Forest ditemukan bakteri yang bersifat antagonis dan mampu untuk menekan pertumbuhan jamur *R. solani*. Perlakuan bakteri filosof sebagai agens antagonis mampu secara nyata menekan pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro*, namun tidak mampu memberikan pengaruh nyata pada tingkat *in vivo* sehingga belum dapat dijadikan sebagai alternatif pengendalian penyakit hawar pelepah padi.
2. Bakteri filosof yang mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani* pada tingkat *in vitro* termasuk ke dalam genus *Bacillus* sp, *Pseudomonas* sp, *Pantoea* sp, dan *Xanthomonas* sp, dan masing masing bakteri memiliki daya hambat yang berbeda terhadap pertumbuhan jamur *R. solani*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui penyebab kemampuan bakteri antagonis dalam menekan perkembangan patogen pada tingkat *in vitro* dan *in vivo* tidak berbanding lurus
2. Untuk penelitian selanjutnya metode aplikasi bakteri antagonis pada tingkat *in vivo* sebaiknya dilakukan dengan cara menyemprotkan suspensi bakteri langsung pada pelepah padi.
3. Untuk penelitian selanjutnya diharapkan lebih memperhatikan faktor kontaminasi agar tidak kehilangan isolat

DAFTAR PUSTAKA

- AAK. 1995. *Berbudidaya Tanaman Padi*. Kanisius, Yogyakarta.
- Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Five Edition. Academic Press. San Diego.
- Alexopoulos, C.J., C.W Mims., and M, Blackwel. 1996. *Introductory of Mycology*. 4th edition. New York: John Willey and Sons.
- Anggarini, R., D. Aliza., and S. Melissa. 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias Gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah* 1(2) : 270-286
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2016. <https://www.bps.go.id/>. Diakses pada 23 oktober 2017.
- Badan Pusat Statistik (BPS). 2017 <https://www.bps.go.id/>. Diakses pada 23 Oktober 2017.
- Balai Penelitian Tanaman Sayuran (Balitsa). 2015. <http://balitsa.litbang.pertanian.go.id>. Diakses pada 23 Oktober 2017
- Barnet, H.L., and B.B, Hunter. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* Fourth Edition. Morgantown. Burcess Publishing Company
- Beattie, G.A. 2002. Leaf Surface waxes and process of leaf colonization by microorganism. *Phyllosphere Mycobiology*. Minnesota: 3-26
- Beguesmia, Y., Y, Choiset., H, Rabesona., M. Baudy-Floc'h., G, Le Blay., T, Haertle., and J.M, Chobert. Antifungal Properties of Durancins Isolated from *Enterococcus durans* A5-11 and of Its Synthetic Fragments. *Letters in Applied Microbiology* 56: 237-244
- Bonjar, S.G.H., S, Zamanian., S, Aghig., P.R, Farokkhi., M.J, Mahdavi., and I, Saadoun. 2006. Antibacterial Activity of Iranian *Streptomyces coralus* strain 63 Against *Ralstonia solanacearum*. *Journal of Biological Science* 6 (1): 127-129.
- BPTP Lampung. lampung.litbang.pertanian.go.id/. Diakses pada 23 oktober 2017.
- Deising, H.B., Reinmann, S., and Pascholati, S.F. 2008. Mechanisms and Significance of Fungicide Resistance. *Jurnal Brazilian Microbiology*.39:286-295.
- Ding, C., A.F, Richard., S, Tian-Shu., and W, Zhan-You. 2014. *Iron and copperas virulence modulators in human fungal pathogens*. *Molecular Microbiology* 93(1): 10-23
- Ellis, R.J., I.P. Thompson., and M.J. Bailey. 1999. Temporal fluctuations in the pseudomonad population associated with sugar beet leaves. *Fems Microbiology Ecology* 28:345–356.

- Figueiredo, M.V.B., L, Seldin., F.F, Araujo., and R.L.M, Mariano. 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: Fundamental and Application. Dalam D.K Maheswari (ed). Microbiology Monograph 18: 21-43. Berlin: Springer Verlag Berlin Heidelberg
- Finot, V.L., P.M, Peterson., F.O, Zuloaga., R.J, Soreng., and O, Matthei. 2005. A revision of *Trisetum* (Poaceae: Pooideae: Aveninae) in South America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 92: 533-568.
- Fiddaman, P.J and S, Rossal. 1993. The Production of Antifungal Volatiles by *Bacillus Subtilis*. *Journal of Applied bacteriology* 74 :119-126
- Gerbore, J., N, Benhamou., J, Vallance., G, Le Floch., D, Grizard., C, Regnault-Roger., and P, Rey. 2013. Biological control of plant pathogens: advantages and limitations seen through the case study of *Pythium oligandrum*. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(7): 4847–4860.
- GPWG (Grass Phylogeny Working Group). 2001. Phylogeny and subfamilial classification of the grasses (Poaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 88(3) : 373-457
- Gokulan, K., S. Khare., and C. Cerniglia. 2014. Production of Secondary Metabolites of Bacteria. *Encyclopedia of Food Microbiology* 2 : 561-569.
- Hadieoetomo, R.S. 1993. Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium. Gramedia. Jakarta
- Hadiwiyono., A, Widiyantoro., and S, Widono. 2013. Antagonisme *Bacillus* terhadap Infeksi Layu *Fusarium* pada Bibit Pisang Hasil Kultur Jaringan. *Agrosains* 5(1): 21-26
- Hasanuddin. 2011. Uji aktivitas antibiosis *Pseudomonas fluorescent* terhadap *Rigidoporus lignosus* (Klotszch) Imazeki penyebab penyakit akar putih. *Jurnal HPT*. 11(1): 87-94
- Hoerussalam., A. Purwantoro., and A. Khaeruni. 2013. Induksi Ketahanan Tanaman Jagung (*Zea Mays* L.) Terhadap Penyakit Bulai Melalui Seed Treatment Serta Pewarisannya Pada Generasi S1. *Ilmu Pertanian* 6(2): 42-59
- Holt, J.G, N.R. Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley, and S.T. William. 1994. Bergey's manual of determinative bacteriology. Edisi ke-9. USA: Williams & Wilkins.
- Inagaki, K. 2001. Outbreaks of Rice Sclerotium Diseases in Paddy Fields and Physiological and Ecological Characteristics of this Causal Fungi. *Science Replications Agricultures, Meijo University*. 37: 57–66.
- Jia, Y., F. Correa-Victoria., A. McClung., L. Zhu., G. Liu., Y. Wamishe., J. Xie, M. Marchetti., S.R.M., Pinson., J.N, Rutger, and J.C. Correl. 2007. Rapid determination of cultivar responses to the sheath blight pathogen *Rhizoctonia solani* using a microchamber screening method. *Plant Disease* 91:485-489

- Kanjanamaessathian, M. 1994. Biological control of sheath blight of rice with bacterial and fungal antagonists. Thesis. Lincoln University.
- Kishore, G.K., S, Pande., and A.R, Podile. 2005. Biological control of late leaf spot of peanut (*Arachis hypogaea*) with chitinolytic bacteria. *Phytopathology*. 95: 1157–1165.
- Kishore, G.K., S, Pande., and A.R. Podile. 2005. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Letter in Applied Microbiology* 40: 260-268
- Keel, C., and G, Defago. 1997. Suppression of root diseases by *Pseudomonas fluorescens* CHA0: importance of the bacterial secondary metabolite 2,4-diacetylphloroglucinol. *Mol Plant Microbe Interact* 5:4-13..
- Kismiyati., W.N, Yusuf., and R, Kusdarwati 2009. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius Auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* Sp.
- Kloepper, J.W and M.N Poerwowidodo. 1992. Talaah Kesuburan Tanah. Angkasa. Bandung
- Konopka, A. 2006. Microbial ecology: searching for principles. *Microbe* 1:175–179
- Korsten, L. and Jager, E.E. (1995) Mode of action of *Bacillus subtilis* for control of avocado postharvest pathogens. *S. Afr. Avocado Growers' Assoc. Yearb.* 18:124-130.
- Kucheryava, N., M. Fiss., G, Auling., and R.M, Kroppenstedt. 1999. Isolation and Characterization Bacteria from the Phyllosphere of Apple, Antagonistic *in vitro* to *Venturia inaequalis*, the Causal Agent of Apple Scab. *Systematic Applied Microbiology* 22: 472-478
- Lindow, S.E and M.T, Brandl. 2013. *Mycobiologi of the Phyllosphere*. Applied Environment microbiology 69:1875
- Londe, V., and J.C.D Silva. 2016. Characterization of Poaceae (grass) species as indicators of the level of degradation in a stretch of riparian forest in Matutina, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 28(1): 102-108
- Madigan et al. 1997. *Biology of Microorganism*. Ed ke-8. New Jersey. Prentice Hall.
- Mangoensoekarjo, S. Balai Penelitian Perkebunan, Medan. 1983. *Gulma dan Cara Pengendalian Pada Budidaya Perkebunan*. Jakarta. Direktorat Jenderal Perkebunan, Departemen Pertanian.
- Martin, C and E.R French. 1996. *Bacterial Wilt of Potato*. Bacterial Wilt Training Manual. International Potatao Centre (CIP). Lima. Peru.
- Miller, T.G. and R.K. Webster. 2001. Soil Sampling Techniques for Determining the Effect of Culture Practices on *Rhizoctonia oryzae-sativae* Inoculums in Rice Field Soil. *Plant Disease* 85: 967–972.

- Mohamed, S., and I.G, Caunter. 1995. Isolation and characterization of a *Pseudomonas fluorescens* strain suppressive to *Bipolaris maydis*. Journal Phytopathology (Phytopathol Z) 143: 111–114.
- Montealegre, J.R., R, Reyes., L.M, Perez., R, Herrera., P, Silva., and X, Besoain. 2003, Selection of bioantagonistic bacteria to be used in biological control of *Rhizoctonia solani* in tomato, Electronic Journal of Biotechnology 6(2):116–127.
- Mueller D.S., and C.A, Bradley. 2008. Field crop fungicide for the North Central United States. North Central United State (US): IPM.
- Muhibuddin, A. 2014. Kunci Praktis Identifikasi Jamur. Malang
- Nagendran, K., G, Karthikeyan., P.M, Faisal., P. Kalaisevi., M, raveendran., K, Prabakar., and T, Raguchander. 2014. Exploiting Endophytic Bacteria for the Management of Sheath Blight Disease in Rice. Biological Agriculture & Horticulture 30(1): 8-23
- Ningsih, E.M.N. 2014. Macam Teknik Budidaya Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi. Journal Agroland 21(2) : 62-68
- Nurchayanti, S.D., T. Arwiyanto., D. Indradewa., and J. Widada. 2013. Isolasi dan Seleksi *Pseudomonas Fluorescens* pada Rizosfer Penyambungan Tomat. Berkala Ilmiah Pertanian 1(1): 15-18
- Nurhasanah, Y.S. 2012. Karakterisasi Cendawan *Botryodiplodia theobromae* dan *Rhizoctonia solani* dari Berbagai Tanaman Inang Berdasarkan Morfologi dan Pola Rapp-Pcr. Skripsi. Institut Pertanian Bogor. Bogor
- Ott, E. M., T. Muller, M. Muller, C. M. Franz, A. Ulrich, M. Gabel, and W. Seyfarth. 2001. Population dynamics and antagonistic potential of enterococci colonizing the phyllosphere of grasses. Journal Applied Microbiology 91: 54–66
- Ou S.H. 1985. Rice Diseases. Commonwealth Mycological Institute. UK. 480
- Parwati, G.A.K.C., K. Khalimi., and W. Adiartayas. 2014. Uji Efikasi Formulasi Rizobakteri *Pantoea agglomerans* GTA24 dalam Mengendalikan Penyakit Rebah Semai yang Disebabkan oleh *Sclerotium rolfsii* pada Tanaman Kedelai. E-Jurnal Agoekoteknologi Tropika 3(4) : 218-229.
- Pelczar, M.J., M. Goodfellow., and N.R Krieg. 1976. *Microbiology*, MC Graw Hil Book Company. New York : 889
- Polechova, D., and D, Storch. 2008. Ecological Niche. Encyclopedia of Ecology: 1088-1097
- Ranjbariyan A., M. Shams-Ghahfarokhi., and M. Razzaghi-Abyaneh. 2014. Antifungal activity of a soil isolate of *Pseudomonas chlororaphis* against medically important dermatophytes and identification of a phenazine-like compound as its bioactive metabolite. Journal de Mycologie Médicale.

- Rustam., Giyanto., D.W. Santosa., S. Susanto. 2011. Seleksi dan Identifikasi Bakteri Antagonis sebagai AgensPengendali Hayati Penyakit Hawar Pelelah Padi. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 30(3): 164-171
- Schaad, N.W., J.B, Jones., and W, Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogen Bacteria*. Ed ketiga. APS Press. St Paul Minnessota.
- Schumann, G.L., and C.J, D'Arcy. 2006. *Essential Plant Pathology*. New York: APS de Phytobacteriologie, INRA, Angers. France
- Schroth. 1978. Plant Growth Promoting Rhizobacteria on Radishes In: *Proceeding of the 4th International Conference on Plant Phatogenic Bacteria 2*. Station de Phatologie Vegetale et
- Siswoputranto.1976. *Komoditi Ekspor Indonesia*. Jakarta: Gramedia.
- Skidmore, A.M., and C.H. Dickinson. 1976. Colony Interactions and Hyphal Interference Between *Septoria Nodorum* and *Phylloplane Fungi*. *Trans. Br. mycol. Soc.* 66 (1) 57-64
- Smith, J.D., K.K. Kidwell., M.A. Evans., R.J. Cook., and R. W. Smiley. 2003. Assess-ment of Spring Wheat Genotypes for Disease Reaction to *Rhizoconia solani* AG 8 in Controlled Environment and Direct-Seeded Field Evaluation. *Crop Science*.43 : 694-700.
- Soenartingsih., Akil., and N.N Andayani. 2015. Cendawan Tular Tanah (*Rhizoctonia solani*) Penyebab Penyakit Busuk Pelelah pada Tanaman Jagung dan Sorgum dengan Komponen Pengendaliannya.
- Steller, S., D. Vollenberoich., F. Leenders., T. Stein., B. Conrad., J. Hofemeister., P. Jacques., P. Thonart., and J. Vater. Structural and functional organization of the fengycin synthetase multienzyme system from *Bacillus subtilis* b213 and A1 /3. *Chemistry and Biology* 6(1) : 31-41
- Sunatmo, T.I. 2007. *Eksperimen Mikrobiologi dalam Laboratorium*. Ardy Agency. Bogor
- Suryadi, Y., I.M. Samudra., T.P. Priyatno., D.W. N. Susilowati., P. Lestari., and Sutoro. 2015. Aktivitas Anicendawan *Bacillus cereus* 11UJ terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae*. *J. Fitopatologi Indonesia* 11(2) : 35-42.
- Suryanto, D. (2009). *Prospek Keanekaragaman Hayati Mikroba (Microbial Bioprospecting) Sumatra Utara*. Pidato pengukuhan Guru Besar Mikrobiologi Universitas Sumatra Utara.
- Susanna, F. 2000. *Uppkomsten av en direktorsprofession. Industrile darnas utbildning och karriar I Finland 1900-1975*. Helsingfors: Finska Vetenskaps-societen.
- Suslow, T.V., M.N. Schroth., and M. Isaka. 1982. *Aplication of a Raphid Method for Gram Differentiation of Plant Pathogenic and Saprophytic Bacteria Without Scanning*. *The American Phytopathological Society* 72(7)

Vauterin, L., P. Yang., A. Alvarez., Y. Takikawa., A. Roth., A.K. Vidaver., R.E. Stall., K. Kester., and J. Swings. 1996. Identification of Non-Pathogenic *Xanthomonas* Strains Associated with Plants. *Journal. System Applied Microbiology* 19 : 96-105

Wahyuni, S., Lianto., and A. Khaeruni. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Manolitik asal Bonggol Pohon Sagu. *Jurnal Agrotekno* 4(3): 174-179

