

**PEMANFAATAN BAKTERI FILOSER TUMBUHAN LEGUM DI
UB FOREST SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN
Rhizoctonia solani PADA KEDELAI**

Oleh

BAGAS UMBA 



UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

MALANG

2018

**PEMANFAATAN BAKTERI FILOSFER TUMBUHAN LEGUM DI
UB FOREST SEBAGAI ANTAGONIS PATOGEN
Rhizoctonia solani PADA KEDELAI**

Oleh

BAGAS UMBARA

145040201111057

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

SKRIPSI

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

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN

MALANG

2018

PERNYATAAN

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

Malang, 25 September 2018

Bagas Umbara



RINGKASAN

Bagas Umbara. 145040201111057. Pemanfaatan Bakteri Filosfer Tumbuhan Legum di UB Forest sebagai Antagonis Patogen *Rhizoctonia solani* pada Kedelai. Di bawah Bimbingan Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph. D. sebagai Pembimbing Utama dan Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. sebagai Pembimbing Pendamping.

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan komoditas strategis di Indonesia karena kedelai merupakan salah satu tanaman pangan penting di Indonesia setelah beras dan jagung. Salah satu faktor yang menyebabkan penurunan produktivitas kedelai yaitu penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani*. Pengendalian yang dilakukan oleh petani diantaranya, penggunaan varietas tahan, mekanis, dan penggunaan pestisida kimia sintetik masih dinilai kurang efektif. Pengendalian ramah lingkungan merupakan salah satu alternatif dalam pengendalian penyakit rebah semai. Salah satu pengendalian ramah lingkungan yaitu menggunakan bakteri yang bersifat antagonis terhadap jamur *R. solani*. Bakteri filosfer yang bersifat antagonis dapat ditemukan di UB Forest karena hutan mempunyai keanekaragaman mikroorganisme yang cukup tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri filosfer tumbuhan legum di UB Forest dan menyeleksi jenis bakteri filosfer tumbuhan legum di UB Forest yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solani*.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan fakultas pertanian Universitas Brawijaya mulai dari bulan Januari 2018 sampai bulan agustus 2018. Tahapan dalam penelitian ini meliputi: eksplorasi bakteri filosfer dari tumbuhan legum yang berada di UB Forest, persiapan bakteri *R. solani*, seleksi dan uji antagonisme bakteri filosfer terhadap *R. solani* pada cawan petri. Pengujian menggunakan rancangan acak lengkap dengan 7 perlakuan dan 4 ulangan.

Hasil eksplorasi bakteri dari filosfer tumbuhan legum diperoleh 30 isolat bakteri. Pada tahap seleksi 10 isolat bakteri bersifat antagonis terhadap jamur patogen *R. solani* dan hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau menunjukkan 5 isolat yang tidak bersifat patogen. Pada pengujian *in vitro*, semua isolat bakteri menghasilkan zona hambat namun, hanya isolat B20 yang mempunyai zona hambat lebih besar dibandingkan perlakuan kontrol. Karakterisasi dan identifikasi dari 5 isolat bakteri diketahui bahwa isolat bakteri kode A9, A10, dan B17 termasuk genus *Clostridium* sp., dan isolat dengan kode A22 dan B20 termasuk genus *Pseudomonas* sp.

SUMMARY

Bagas Umbara. 145040201111057. Utilization Bacteria Phyllosphere of Legume in UB Forest as Antagonists Pathogen *Rhizoctonia Solani* on Soybeans. Supervised by Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph. D. as main supervisor and Restu Rizkyta Kusuma, SP., M.Sc. as companion supervisor.

Soybean (*Glycine max* L) is a strategic commodity in Indonesia because soybeans are one of the important food crops in Indonesia after rice and corn. One of the factors that causes a decrease in soybean productivity is damping-off caused by *Rhizoctonia solani*. Controls carried out by farmers include the use of resistant varieties, mechanical, and synthetic chemical pesticides is still considered ineffective. Environmentally friendly control is one of the alternatives in controlling damping off disease. One of the environmentally friendly controls is using bacteria that are antagonistic to *R. solani*. Bacteria antagonist phyllosphere can be found at UB Forest because the forest has a high diversity of microorganisms. The purpose of this study was to determine the type of phyllosphere bacteria in legume plants in UB Forest and select the types of legume phyllosphere bacteria in UB Forest which are antagonist towards pathogen *R. solani*.

The research was conducted at Laboratory of disease in Pest and Disease of Plant, Faculty of Agriculture, University of Brawijaya from January 2018 until august 2018. The steps of this research are: Collecting sample leave at UB Forest *R. solani* bacterial preparation, selection and testing of phylosphere bacteria antagonist against *R. solani* in petri dishes. The test using complete random design with 7 treatments and 4 replications

The results of exploration bacteria from the phyllosphere of legume obtained 30 bacteria isolates. In the selection stage 10 bacterial isolates are antagonist to *R. solani* pathogenic fungi and the results of hypersensitivity tests on tobacco plants show 5 isolates that are not pathogenic. *In vitro* testing, all bacterial isolates produced a inhibitory zone but only B20 isolates had the larger than fungicide inhibitory zone. Characterization and identification of 5 bacterial isolates found that bacterial isolates code A9, A10, and B17 were included in the genus *Clostridium* sp and isolates with code A22 and B20 were included in the genus *Pseudomonas* sp

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan Penelitian dengan judul “Pemanfaatan Bakteri Filosfer Tumbuhan Legum Di UB *Forest* Sebagai antagonis patogen *Rhizoctonia solani* Pada Kedelai”.

Pada penulisan skripsi ini penulis dibantu oleh beberapa pihak. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bapak Luqman Qurata Aini, SP., M.Si., Ph.D selaku dosen pembimbing utama dan Ibu Restu Rizkyta Kusuma SP., M.Sc, selaku dosen pembimbing pendamping atas segala kesabaran, nasihat, arahan, dan bimbingannya kepada penulis.
2. LQA squad dan pengurus HIMAPTA selaku teman seperjuangan yang banyak memberikan masukan, motivasi serta dukungan kepada penulis.
3. Orang tua dan keluarga tercinta yang telah memberikan motivasi memberikan masukan, motivasi serta dukungan kepada penulis.
4. Teman-teman di Fakultas Pertanian, khususnya di Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan yang telah banyak membantu dalam segi akomodasi dan memberikan motivasi dalam pelaksanaan penelitian maupun pengerjaan skripsi, serta

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

Malang, 25 September, 2018

Penulis

RIWAYAT HIDUP

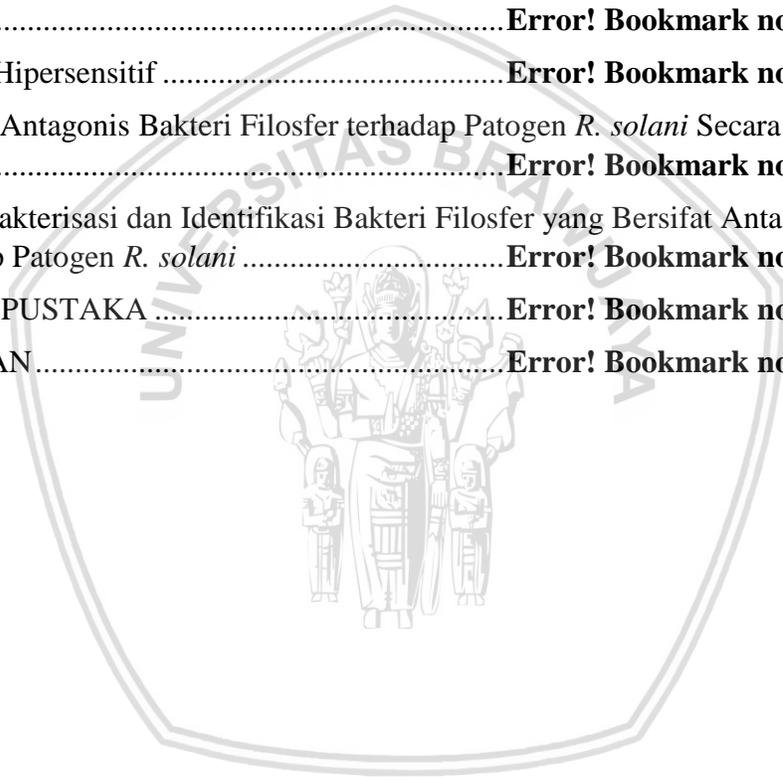
Penulis dilahirkan di Aceh, 20 November 1996 sebagai anak ketiga dari empat bersaudara, dari pasangan Bapak Adi Susanto dan Ibu Lilian Saswita alm. Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 7 lulus pada tahun 2008, pendidikan menengah pertama di SMPN 7 Muaro Jambi lulus pada tahun 2011, pendidikan menengah atas di SMAN Titian Teras H. Abdurrahman Sayoeti lulus pada tahun 2014. Pada tahun 2014, penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata-1 di program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang melalui jalur Seleksi Nasional Masuk Perguruan Tinggi Negeri (SNMPTN). Pada semester 6, penulis memasuki jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan.

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif dalam organisasi dan kepanitiaan. Tahun 2014 penulis pernah aktif dalam organisasi forum daerah Himpunan Mahasiswa Jambi Malang sebagai anggota. Pada tahun 2017 penulis mmenjadi ketua departemen divisi Administrasi dan Kesekretariatan HIMAPTA. Selain aktif di organisasi, penulis juga pernah mengikuti beberapa kepanitiaan diantaranya Plant Protection Olympiad pada tahun 2017 sebagai anggota divisi HUMAS, kegiatan PROTEKSI sebagai koordinator divisi PROTEKTOR, dan kegiatan ARTHROPODA sebagai koordinator divisi perlengkapan.

DAFTAR ISI

| | |
|--|-------------------------------------|
| RINGKASAN | i |
| SUMMARY | ii |
| KATA PENGANTAR | iii |
| DAFTAR ISI..... | iv |
| DAFTAR GAMBAR | 10 |
| DAFTAR TABEL..... | 11 |
| I PENDAHULUAN | Error! Bookmark not defined. |
| 1.1 Latar Belakang..... | Error! Bookmark not defined. |
| 1.2 Perumusan Masalah..... | Error! Bookmark not defined. |
| 1.3 Tujuan Penelitian..... | Error! Bookmark not defined. |
| 1.4 Hipotesis Penelitian..... | Error! Bookmark not defined. |
| 1.5 Manfaat Penelitian..... | Error! Bookmark not defined. |
| II. TINJAUAN PUSTAKA..... | Error! Bookmark not defined. |
| 2.1 Patogen <i>Rhizoctonia solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 2.2.2 Gejala Penyakit | Error! Bookmark not defined. |
| 2.2.3 Siklus Hidup <i>Rhizoctonia solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 2.2.4 Pengendalian Penyakit | Error! Bookmark not defined. |
| 2.2 Bakteri Filosfer | Error! Bookmark not defined. |
| 2.3 Tumbuhan Legum | Error! Bookmark not defined. |
| III. METODE PENELITIAN..... | Error! Bookmark not defined. |
| 3.1 Tempat dan Waktu Penelitian | Error! Bookmark not defined. |
| 3.2 Alat dan Bahan | Error! Bookmark not defined. |
| 3.2 Metode Penelitian..... | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4 Pelaksanaan Penelitian | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4.1 Eksplorasi Bakteri Filosfer dari Tumbuhan Legum di UB <i>Forest</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4.2 Persiapan Patogen <i>Rhizoctonia solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4.3 Seleksi Bakteri Filosfer dari Tumbuhan Legum di UB <i>Forest</i> terhadap Patogen <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |

| | |
|--|-------------------------------------|
| 3.4.4 Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap Patogen <i>R. solani</i> Secara <i>in vitro</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 3.4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 3.5 Variabel Pengamatan..... | Error! Bookmark not defined. |
| 3.5.1 Variabel Pengamatan Uji dalam Cawan Petri..... | Error! Bookmark not defined. |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN | Error! Bookmark not defined. |
| 4.1 Seleksi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis dari Tumbuhan Legum di UB <i>Forest</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 4.2 Uji Hipersensitif | Error! Bookmark not defined. |
| 4.3 Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap Patogen <i>R. solani</i> Secara <i>in vitro</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| DAFTAR PUSTAKA | Error! Bookmark not defined. |
| LAMPIRAN | Error! Bookmark not defined. |



DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|---|-------------------------------------|
| 1. | Percabangan hifa <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 2. | Gejala penyakit rebah semai pada kedelai | Error! Bookmark not defined. |
| 3. | Rancangan penempatan bakteri filosfer dan jamur <i>R. solani</i> . | Error! Bookmark not defined. |
| 4. | Sketsa pengujian <i>in vitro</i> pada cawan petri | Error! Bookmark not defined. |
| 5. | Hasil isolasi bakteri 24 jam setelah inokulasi pada media NA. | Error! Bookmark not defined. |
| 6. | Hasil pengujian hipersensitif bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> A10 pada daun tembakau menunjukkan hasil negatif tanpa gejala nekrotik | Error! Bookmark not defined. |
| 7. | Hasil penghambatan bakteri antagonis terhadap pertumbuhan <i>R. solani</i> 48 JST pada media PDA..... | Error! Bookmark not defined. |
| 8. | Bentuk koloni bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> . | Error! Bookmark not defined. |
| 9. | Hasil pengujian gram bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> isolat A20.. | Error! Bookmark not defined. |
| 10. | Hasil pengecatan spora bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 11. | Hasil pengujian oksidatif fermentatif bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 12. | Hasil uji pigmen fluorescens bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> . | Error! Bookmark not defined. |
| 13. | Hasil uji katalase bakteri filosfer antagonis terhadap <i>R. solani</i> menunjukkan reaksi positif yaitu menghasilkan gelembung isolat A22 | Error! Bookmark not defined. |

LAMPIRAN

Gambar lampiran 1 Pengambilan sampel di hutan UB Forest **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 2 Isolasi bakteri filosfer..... **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 3 Seleksi bakteri antagonis filosfer terhadap *R. solani* **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 4 Uji bakteri antagonis filosfer terhadap *R. solani* secara *in vitro* **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 5 Uji oksidatif fermentatif bakteri filosfer terhadap *R. solani* **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 6 Uji katalase bakteri filosfer terhadap *R. solani***Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 7 Uji Hipersensitif bakteri filosfer terhadap *R. solani* **Error! Bookmark not defined.**

Gambar lampiran 8 Diagram pengujian bakteri hingga tingkat genus.....37

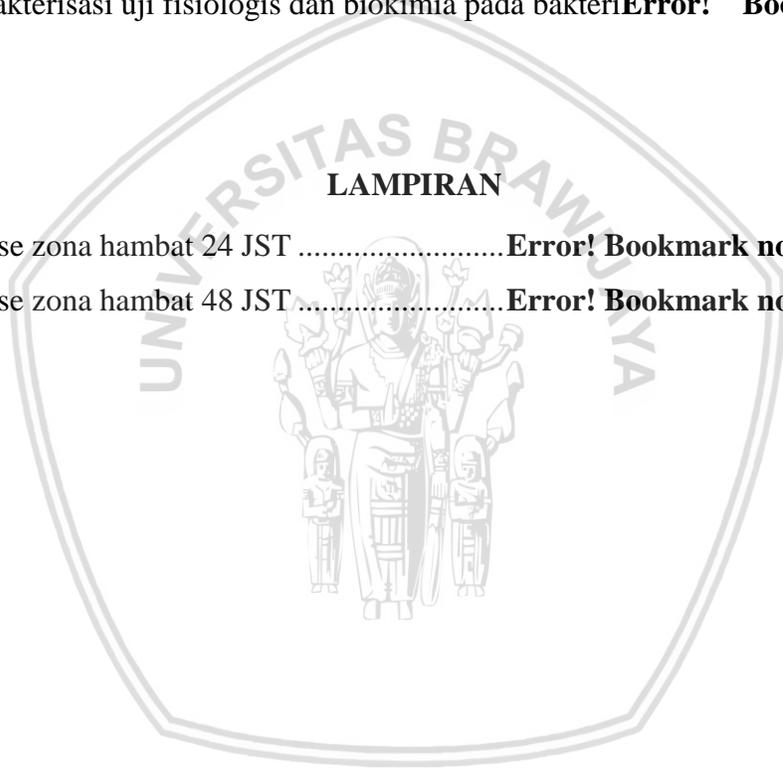


DAFTAR TABEL

| Nomor | Teks | Halaman |
|-------|---|-------------------------------------|
| 1 | Diameter zona hambat yang dibentuk oleh bakteri filofser dalam menghambat <i>R. solani</i> pada 48 jam setelah inokulasi..... | Error! Bookmark not defined. |
| 2 | Rerata Persentase Zona Hambat Bakteri Antagonis Terhadap Jamur Patogen <i>R. solani</i> | Error! Bookmark not defined. |
| 3 | Ciri-ciri morfologi bakteri filofser yang terseleksi | Error! Bookmark not defined. |
| 4 | Karakterisasi uji fisiologis dan biokimia pada bakteri | Error! Bookmark not defined. |

LAMPIRAN

| | | |
|---|-------------------------------------|-------------------------------------|
| 1 | Persentase zona hambat 24 JST | Error! Bookmark not defined. |
| 2 | Persentase zona hambat 48 JST | Error! Bookmark not defined. |





I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan komoditas strategis di Indonesia karena kedelai merupakan salah satu tanaman pangan penting di Indonesia setelah beras dan jagung. Produktivitas kedelai di Indonesia sering mengalami fluktuasi. Berdasarkan BPS (2015), pada tahun 2010 mencapai 1.38 ton/ha, kemudian tahun 2011 terjadi penurunan menjadi 1.37 ton/ha, tahun 2012 mencapai 1.49 ton/ha kemudian tahun 2013 menurun 1.42 ton/ha. Salah satu faktor yang menyebabkan fluktuasi produktivitas kedelai yaitu penyakit rebah semai yang disebabkan oleh jamur patogen *Rhizoctonia solani*. Penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *R. solani* merupakan salah satu penyakit penting pada kedelai yang menyebabkan kerugian yang cukup besar. Penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *R. solani* menyebabkan kehilangan hasil hingga 100% jika serangan terjadi pada fase awal pertumbuhan (Khadim *et al.*, 2014)

Beberapa upaya pengendalian yang dilakukan oleh petani diantaranya, penggunaan varietas tahan, mekanis dan pestisida nabati, namun pengendalian tersebut dirasa masih kurang efektif. Pestisida kimia sintetik memang sering digunakan petani untuk mengendalikan penyakit rebah semai, namun dalam penggunaannya kurang tepat seperti bahan aktif yang tidak sesuai dengan sasaran serta dosis yang tidak sesuai anjuran dapat menyebabkan penggunaan pestisida kimia sintetik tidak efektif dan efisien. Penggunaan pestisida kimia sintetik secara berulang-ulang dapat menyebabkan ketahanan terhadap jamur patogen. Menurut Slawson (1998) menyatakan bahwa salah satu faktor yang menyebabkan timbulnya ketahanan jamur yaitu penggunaan fungisida yang cukup lama.

Berbagai efek samping yang ditimbulkan oleh penggunaan pestisida kimia sintetik, perlu adanya pengendalian lain dengan menggunakan bakteri antagonis. Penggunaan bakteri antagonis merupakan salah satu komponen pengendalian ramah lingkungan yang memiliki beberapa keuntungan, antara lain tidak mengandung bahan beracun yang bisa menimbulkan residu pada rantai makanan dan pencemaran lingkungan dan dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (Wei *et al.* 1991).

Bakteri antagonis dapat diperoleh salah satunya dari filosfer. Filosfer merupakan semua bagian tanaman yang berada di atas tanah. Beberapa bakteri filosfer yang dapat ditemui bersifat antagonis terhadap jamur tular tanah. Berdasarkan laporan Sumartini (2011) bahwa mikroorganisme antagonis dari jamur tular tanah umumnya dari genus *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, dan *Bacillus*. Selain itu *Actinomycetes* juga berperan sebagai musuh alami dari jamur tular tanah melalui mekanisme antibiosis.

UB *Forest* merupakan hutan pendidikan yang ditetapkan oleh menteri lingkungan hidup dan kehutanan pada tanggal 19 september 2016, dengan luas 544,74 ha (Dian, 2016). UB *Forest* terdiri atas hutan konservasi dan hutan produksi. Jenis tanaman yang dapat ditemui di UB *Forest* yaitu pinus, kopi, jahe, wortel, sawi dan jenis sayuran lainnya. Bakteri filosfer yang bersifat antagonis dapat ditemukan di UB *Forest* karena hutan mempunyai keanekaragaman mikroorganisme yang cukup tinggi. Menurut Nurfitriani *et al.* (2016) Sebanyak 285 isolat bakteri filosfer terdapat 58 bakteri yang mampu menghambat penyakit hawar daun secara *in vitro*. Berdasarkan potensi UB *Forest* tersebut maka untuk mendapatkan bakteri filosfer yang bersifat antagonis terhadap *R. solani* perlu dilakukan eksplorasi bakteri filosfer pada tumbuhan legum.

1.2 Perumusan Masalah

Rumusan masalah yang diajukan dari penelitian ini adalah bagaimana potensi bakteri filosfer tumbuhan legum di UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solani*.

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri filosfer tumbuhan legum di UB *Forest* dan menyeleksi jenis bakteri filosfer tumbuhan legum di UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solani*.

1.4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini yaitu ditemukan jenis bakteri filosfer tumbuhan legum di UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solani*.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah untuk mengetahui jenis bakteri filofosfer tumbuhan legum di UB *Forest* yang bersifat antagonis terhadap patogen *R. solani* serta dapat dijadikan langkah strategis dan ramah lingkungan dalam upaya pengendalian penyakit rebah semai yang disebabkan oleh *R. solani*.

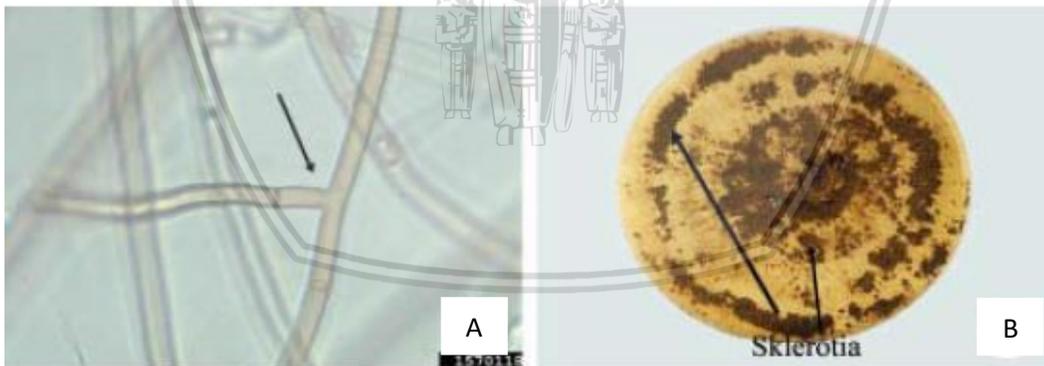




II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Patogen *Rhizoctonia solani*

R. solani termasuk dalam kingdom *Fungi*, phylum *Deuteromycota*, class *Deuteromycetes*, ordo *Agonomycetales*, famili *Agnomycetaceae*, genus *Rhizoctonia*, species *Rhizoctonia solani* Khun (Agrios. 2005). Hifa *R. solani* yang masih muda mempunyai percabangan yang membentuk sudut 45° , semakin dewasa percabangannya tegak lurus, kaku, dan mempunyai ukuran yang sama (*uniform*). Diameter hifa jamur *R. solani* bergantung pada isolat dan jenis media yang digunakan. *R. solani* yang diisolasi dengan media PDA mempunyai diameter 4-6 μm , dan yang diisolasi dengan media *Hopkins syntetic* agar mencapai 6-13 μm . Setiap isolat mempunyai diameter 8-12 μm , tetapi ada yang berdiameter 6,20-9,50 μm . Sklerotium dari *R. solani* terbentuk dari hifa yang mengalami agregasi menjadi massa yang kompak (Gambar 1). Sklerotium pada awal pertumbuhan berwarna putih dan setelah dewasa berubah menjadi coklat. Bentuk sklerotium pada umumnya bulat atau tidak beraturan, dan ukurannya bervariasi, bergantung pada isolatnya (Soenartiningih *et al*, 2009).



Gambar 1. Percabangan hifa *R. solani*. a: yang hampir siku dan b: sklerotia (Sumartini, 2011)

2.2.1 Ekologi

Jamur patogen *R. solani* banyak ditemukan pada musim hujan, terutama pada tanah yang lembap. Jamur ini dapat membentuk struktur dorman, yaitu sklerotia pada permukaan tanah atau pangkal batang. 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 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 (zona perakaran). Tanaman inang jamur patogen *R. solani* sangat luas, meliputi kentang, tomat, kedelai, kacang tanah, selada, dan bunga matahari (Pracaya, 2008). Faktor-faktor yang mempengaruhi cara bertahan hidup jamur *R. solani* sangat kompleks, meliputi faktor biotik (interaksi dengan mikroorganisme lain), dan abiotik yang meliputi suhu, kelembapan tanah, kandungan oksigen, dan pH tanah. Mikroorganisme yang berinteraksi di dalam tanah ada beberapa jenis, seperti bakteri, aktinomisetes, dan jamur. Bakteri yang umumnya menjadi antagonis jamur adalah *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, atau *Streptomyces*, sedangkan jamur antagonis antara lain *Trichoderma* dan *Gliocladium*. Pada suhu yang tinggi *R. solani* akan membentuk sklerotia. Sklerotia yang dihasilkan oleh hifa jamur lebih banyak pada lahan kering daripada di lahan beririgasi. Jumlah sklerotia di dalam tanah organik lebih banyak daripada di tanah berpasir karena tanah organik mengandung nutrisi yang tinggi. Ketersediaan unsur unsur yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dipengaruhi oleh pH. Pada tanah dengan pH tinggi, ketersediaan unsur-unsur yang dibutuhkan oleh *R. solani* berkurang. Pada tanah dengan pH rendah, organisme antagonis berkembang dengan baik sehingga perkembangan *R. solani* terhambat. Suhu optimum bagi perkembangan *R. solani* berkisar 25–32°C, dengan suhu minimum 7°C dan suhu maksimum 35°C. Perkecambahan sklerotia yang optimum terjadi pada kisaran suhu 21–30°C. Pada suhu 0°C, hifa akan mati dan tidak dapat membentuk sklerotia, dan pada suhu -10°C sklerotia akan mati (Domsch *et al.* 1980).

2.2.2 Gejala Penyakit

R. solani memiliki kisaran inang yang luas, selain dapat menyerang tanaman jagung, nanas, padi, sorghum, dan ubi jalar, jamur tersebut juga dapat menyerang tanaman kubis, brokoli, paprika, tomat, mentimun, kedelai, gandum, cengkeh, jeruk dan bunga tulip (Sumartini, 2011).

Tanaman yang terserang *R. solani* akan menunjukkan gejala layu yang diawali dengan menguningnya daun tanaman. Gejala pada batang ditandai timbulnya bercak-bercak cokelat, yang cepat melebar sehingga batang tanaman menjadi busuk mengering dan berwarna cokelat (Khaeruni dan Rahman, 2012). Dapat dilihat pada gambar 2.



Gambar 2. Gejala penyakit rebah semai pada kedelai (Agrios, 2005)

2.2.3 Siklus Hidup *R. solani*

Jamur *R. solani* mempunyai siklus hidup, yaitu siklus hidup tingkat imperfek. Pada tingkat imperfek, *R. solani* hanya membentuk miselia dan sklerotia. *R. solani* merupakan jamur yang bereproduksi secara aseksual (anamorph), jamur tersebut memiliki fase seksual *Thanatephorus cucumeris* dan sering dikatakan sebagai tingkat perfek (Agrios, 2005).

2.2.4 Pengendalian Penyakit

Pengendalian penyakit tular tanah sebaiknya disesuaikan dengan cara bertahan hidup jamur. Pengendalian penyakit yang dapat diterapkan adalah aplikasi mikroorganisme antagonis, penggunaan varietas tahan, dan cara mekanis. Rotasi tanaman sulit dilakukan karena kisaran tanaman inangnya sangat luas. Pengendalian dengan fungisida kimiawi tidak tepat karena penggunaannya harus sering sesuai dengan sifat tanah yang menyerap, selain dapat mencemari lingkungan dan mematikan musuh alami dan mikroorganisme pendegradasi senyawa kimia beracun. Selain itu, fungisida dapat mencemari air tanah dan berdampak buruk bagi kesehatan penduduk sekitar (Sumartini, 2011).

Penggunaan fungisida nabati aman bagi lingkungan tanah, air, dan udara, dan dapat diterapkan untuk penyelimutan biji dan penyemprotan pada pangkal batang. Namun, bahan nabati mudah tergradasi dan menguap sehingga aplikasinya harus beberapa kali. Pengendalian penyakit yang sering dilakukan adalah dengan mencabut tanaman yang sakit. Cara ini dapat diteruskan jika jumlah tanaman yang terserang dalam suatu area pertanaman hanya sedikit. Jika jumlah tanaman yang terserang banyak maka cara ini tidak efektif dan tidak efisien. Pencabutan tanaman sakit kemudian diletakkannya di permukaan tanah perlu dihindari karena dapat menjadi sumber inokulum pada musim tanam berikutnya. Tanaman sakit yang telah dicabut harus ditanamkan ke dalam tanah atau dibakar. Penanaman varietas tahan merupakan cara pengendalian yang praktis, murah, dan aman bagi lingkungan, namun ketersediaan varietas tahan sangat terbatas. Pengendalian yang paling sesuai adalah penggunaan mikroorganisme antagonis karena aman bagi lingkungan dan sekali aplikasi akan bermanfaat untuk beberapa kali musim tanam. Organisme antagonis dari jamur tular tanah umumnya dari genus *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, dan *Bacillus*. Selain itu *Actinomycetes* juga berperan sebagai musuh alami dari jamur tular tanah melalui mekanisme antibiosis (Sumartini, 2011).

2.2 Bakteri Filosfer

Filosfer merupakan istilah yang digunakan dalam mikrobiologi untuk merujuk pada semua bagian tanaman yang berada di atas tanah sebagai habitat mikroorganisme. Bakteri yang dapat hidup dan melakukan aktivitasnya pada permukaan tanaman disebut bakteri epifit (Beattie and Lindow, 1999). Menurut Hirano and Upper (2000), bakteri epifit tidak hanya menempati permukaan daun saja (epidermis) tetapi juga menempati ruang interselular pada mesofil (apoplas), sedangkan bakteri yang pada jaringan vascular disebut bakteri epifit. Perubahan kondisi lingkungan sering terjadi pada permukaan daun sejalan dengan perubahan siang dan malam. Suhu permukaan berkisar 40-50°C pada penyinaran yang intensif, sedangkan di malam hari suhu mencapai 5-10 °C. Radiasi sinar ultra violet yang cukup tinggi dan lingkungan yang miskin nutrisi (oligotropik) menyumbangkan kondisi cekaman bagi bakteri yang hidup

pada habitat tersebut. Keunikan yang berada di permukaan daun adalah bahwa kondisi tersebut terjadi sepanjang dan setiap hari. Mungkin kondisi ini tidak seekstrem kondisi yang terjadi pada sumber-sumber air panas atau lingkungan ekstrim lainnya. Pada filosfer terjadi fluktuasi suhu dan penyinaran yang begitu cepat, sering dan berulang-ulang sehingga dapat menyebabkan cekaman bagi bakteri-bakteri tertentu (Hirano dan Upper, 2000).

Menurut Bettie dan Lindow (1999), bakteri pada permukaan daun tidak berada pada tempat yang seragam dan merata, melainkan berkoloni pada tempat tertentu. Studi yang dilakukan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) menunjukkan bahwa bakteri berkoloni di trikoma, stomata, lekukan-lekukan di tulang daun, kutikula, sekitar hidatoda dan pada lubang stomata dari tanaman oleander dan di rambut-rambut halus pada daun zaitun. Penelitian yang dilakukan Beattie (2002), menunjukkan bahwa ketebalan kutikula mempengaruhi populasi bakteri pada habitat tersebut. Kontak pertama antara bakteri imigran dengan permukaan daun terjadi di lapisan kutikula. Percobaan yang dilakukan pada jagung mutan yang memiliki lapisan lilin yang berbeda-beda densitas dan komposisi struktur kristalnya jarang, dihuni oleh bakteri epifit dengan populasi yang rendah. Hasil penelitian ini masih merupakan skala kecil dari interaksi antara bakteri dan tanaman yang belum dapat dijelaskan (Beattie, 2002).

2.3 Tumbuhan Legum

Leguminosae merupakan tumbuhan polong-polongan yang memiliki sistem perakaran yang mampu bersimbiosis dengan bakteri *Rhizobium* dan membentuk bintil akar yang mempunyai kemampuan mengikat nitrogen di udara. (Purwanto, 2007). Tumbuhan legum memiliki banyak jenis berdasarkan bentuknya. Tumbuhan legum berdasarkan bentuknya menurut Purwanto (2007) 1) Pohon adalah tanaman leguminosa yang berkayu dan mempunyai tinggi lebih dari 1,5 meter, contoh : *Leucaena leucocephala*, *Sesbania glandiflora*, *Glyricidia sepium*, *Bauhinia* sp., 2) Perdu adalah tanaman leguminosa yang berkayu dan mempunyai tinggi kurang dari 1,5 meter, contoh : *Desmanthus vergatus*, *Desmodium gyroides*, *Flemingia congesta*, *Indigofera arrecta*, 3) Semak adalah tanaman leguminosa yang tidak berkayu, sifat

tumbuhnya memanjat dan merambat, contoh : *Centrosema pubescens*, *Pueraria phaseoloides*, *alopogonium mucunoides*.

Tumbuhan legum yang digunakan dalam penelitian ini adalah lamtoro dan johar. Menurut Purwanto (2007) bahwa lamtoro adalah sejenis pohon dari famili *Fabaceae* (*Leguminoseae*, polong-polongan), yang kerap digunakan dalam penghijauan lahan atau pencegahan erosi, sementara *Leucaena leucocephala* dikenal dengan sebutan lamtoro gung. Lamtoro berasal dari Meksiko dan Amerika Tengah, di mana tanaman ini tumbuh menyebar luas. Penjajah Spanyol membawa biji-bijinya dari Meksiko ke Filipina di akhir abad XVI dan dari tempat ini mulailah lamtoro menyebar luas ke berbagai bagian dunia dan ditanam sebagai peneduh tanaman kopi, penghasil kayu bakar, serta sumber pakan ternak. Lamtoro mudah beradaptasi di berbagai daerah tropis seperti Asia dan Afrika termasuk pula di Indonesia. Lamtoro mengandung zat aktif yang berupa alkaloid, saponin, flavonoid, mimosin, leukanin, protein, lemak, kalsium, fosfor, besi, vitamin A dan vitamin B, beberapa zat aktif yang terkandung dalam lamtoro dapat dimanfaatkan sebagai herbisida alami (Purwanto, 2007). Johar (*Cassia siamea*) merupakan tanaman hutan yang masuk dalam famili *Fabaceae*. Johar merupakan tanaman yang cepat tumbuh, tinggi pohon mencapai 10-15 m, dan diameter batangnya sekitar 40-50 cm. johar sering ditanam dalam sistem pencampuran (agroforestri), baik tanaman sela, tanaman tepi maupun penghalang angin (Hendrati, 2014). Daun Johar juga dilaporkan banyak digunakan dalam pengobatan tradisional antara lain sebagai obat malaria, gatal, kudis, kencing manis, demam, luka dan dimanfaatkan sebagai tonik karena memiliki kandungan flavonoid dan karotenoid yang cukup tinggi (Heyne, 1987).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan mulai dari bulan Januari 2018 sampai bulan Agustus 2018.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah: timbangan, panci, kompor listrik, autoklaf, cawan petri, *vortex*, *centrifuge*, jarum ose, mikroskop, bunsen, gelas ukur, jarum suntik, sprayer, stik L, gelas objek, mikro pipet, bluetip, *Laminar air flow cabinet* (L AFC), tabung reaksi, kamera, alat tulis, *falcon tube*, penggaris, preparat, tabung reaksi, dan *cork borer*.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain daun tumbuhan legum yang diperoleh dari UB *Forest*, isolat *R. solani* (koleksi Balitkabi), tanaman tembakau, media *Nutrient Agar* (NA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA) media King's B, media OF, aquades steril, spiritus, alkohol 70%, clorox, plastik bening, KOH 3%, fungisida bahan aktif mancozeb, kristal violet, iodine, *malacite green*, safranin, tissue steril, aluminium foil, agar teknis, plastik *wrap* dan kapas.

3.2 Metode Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini meliputi: eksplorasi bakteri filofser dari tumbuhan legum yang berada di UB *Forest*, persiapan bakteri *R. solani*, seleksi bakteri filofser dari tumbuhan legum yang berada di UB *Forest* dan uji antagonisme bakteri filofser terhadap *R. solani* pada cawan petri. Uji antagonisme dalam cawan petri menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan.

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Eksplorasi Bakteri Filofser dari Tumbuhan Legum di UB *Forest*

Eksplorasi bakteri filofser dari tumbuhan legum di UB *Forest* menggunakan metode (Santosa, 2003). Pengambilan sampel dari bagian daun dengan menggunakan gunting dengan ukuran 3 cm lalu menaruh potongan daun kedalam *falcon tube* yang berisikan aquades steril selanjutnya menutup kembali *falcon tube* dengan menggunakan *wrap* agar tidak tumpah.

Isolasi bakteri filosfer dilakukan dengan metode *dillution plate* atau pengenceran bertingkat, sampel daun di dalam *falcon tube* yang dihomogenkan menggunakan *vortex* selama 3 menit kemudian potongan daun dikeluarkan dari *falcon tube* menggunakan pinset. Suspensi bakteri pada *falcon tube* disentrifugasi selama 15 menit dengan kecepatan 4000 rpm selanjutnya di *vortex* kembali selama 5 menit. Supernatan yang diambil kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi aquades steril sebanyak 9 ml, diencerkan sampai dengan tingkat 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-5} , dan 10^{-7} . Pengenceran yang dilakukan diambil sebanyak 100 μ l menggunakan mikropipet dan dimasukkan kedalam cawan petri yang telah berisi media NA. suspensi bakteri diratakan menggunakan stik L. Isolat bakteri di inkubasi selama 24 jam pada suhu ruang, koloni yang tumbuh dimurnikan hingga didapatkan biakan bakteri murni dan tunggal.

3.4.2 Persiapan Patogen *R. solani*

Jamur patogen *R. solani* diperoleh dari staf peneliti Alfi Inayati Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (Balitkabi). Jamur patogen di murnikan pada media PDA.

3.4.3 Seleksi Bakteri Filosfer dari Tumbuhan Legum di UB Forest terhadap Patogen *R. solani* **Seleksi Bakteri Filosfer**

Sebanyak 30 isolat bakteri filosfer dari tumbuhan legum di UB Forest diseleksi untuk mengetahui bakteri yang bersifat antagonis terhadap pertumbuhan jamur patogen *R. solani*. Metode pelaksanaan yang dilakukan sebagai berikut:

a. Persiapan Jamur *R. solani*

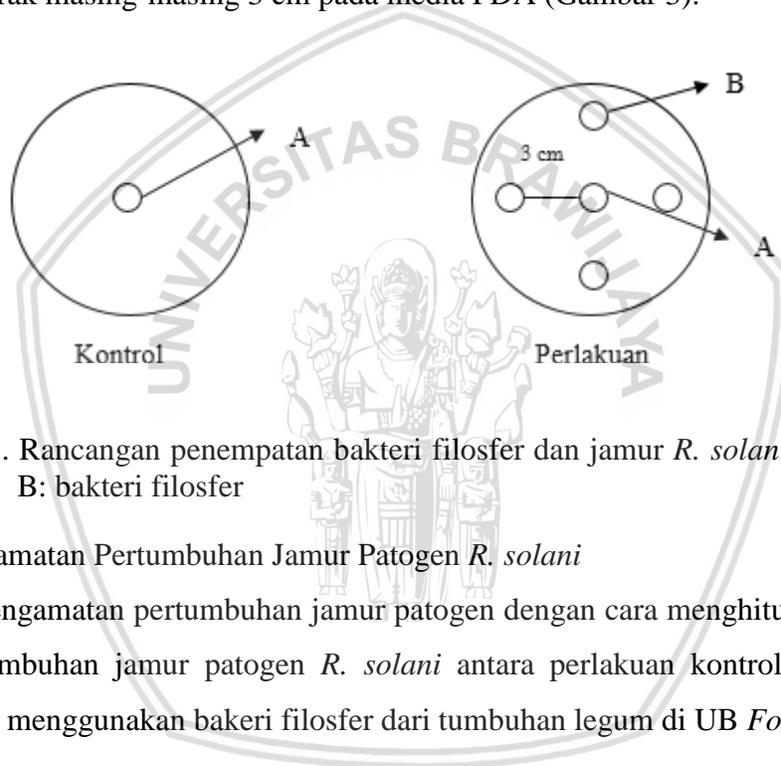
Isolat *R. solani* yang digunakan diperoleh dari staf peneliti Alfi Inayati Balai Penelitian Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian (Balitkabi). Isolat jamur kemudian di murnikan pada media *Potato Dextrose Agara* (PDA) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari untuk mendapatkan biakan murni.

b. Persiapan Bakeri Filosfer dari Tumbuhan Legum di UB Forest

Isolat bakteri filosfer dari tumbuhan legum di UB Forest berjumlah 30 isolat diremajakan kembali pada media *Nutrient Agar* (NA) dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam untuk mendapatkan biakan murni.

c. Seleksi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis dari Tumbuhan Legum di UB *Forest*

Tahapan seleksi bakteri filofser dari tumbuhan legum di UB *Forest* terhadap jamur patogen *R. solani* dilakukan pada media PDA. Kertas saring berdiameter 0,5 cm yang telah disterilkan dengan autoklaf dimasukkan ke dalam suspensi bakteri pada masing-masing perlakuan selama 1 menit dan dikering anginkan selama 5 jam. Seleksi bakteri filofser dari tumbuhan legum di UB *Forest* yang bersifat antagonis dengan menempelkan kertas saring pada 4 titik dan jamur patogen *R. solani* berada di tengah dengan jarak masing-masing 3 cm pada media PDA (Gambar 3).



Gambar 1. Rancangan penempatan bakteri filofser dan jamur *R. solani*. A: *R. solani*; B: bakteri filofser

d. Pengamatan Pertumbuhan Jamur Patogen *R. solani*

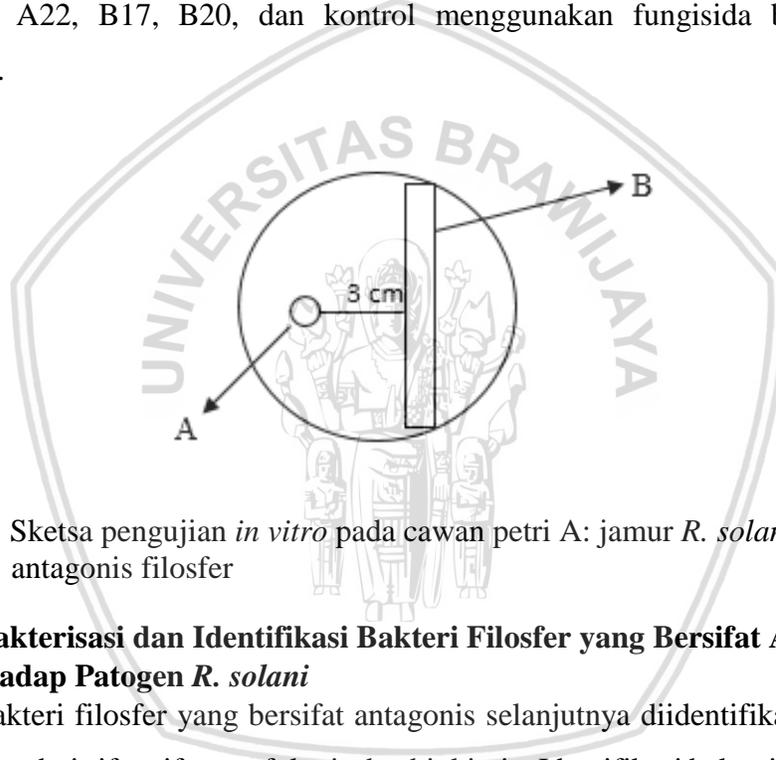
Pengamatan pertumbuhan jamur patogen dengan cara menghitung selisih jari-jari pertumbuhan jamur patogen *R. solani* antara perlakuan kontrol dibandingkan perlakuan menggunakan bakteri filofser dari tumbuhan legum di UB *Forest*.

Uji Hipersensitif

Pengujian reaksi hipersensitif ini dengan infiltrasi suspensi yang diuji pada daun tembakau. Pengamatan reaksi hipersensitif selama 48 jam, dengan ditunjukkan reaksi positif yakni ditandai dengan munculnya bercak nekrosis kecoklatan dan kering pada daun tembakau. Sedangkan reaksi negatif ditunjukkan dengan gejala tidak muncul maka bakteri yang diuji tidak bersifat patogen pada tanaman.

3.4.4 Uji Antagonis Bakteri Filosfer terhadap Patogen *R. solani* Secara *In vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* dilakukan pada cawan petri berdiameter 9 cm. Pengujian mengacu pada Pratama *et al.* (2013), yaitu dengan metode kultur ganda (*dual culture*). Metode tersebut dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat bakteri antagonis dan isolat jamur *R. solani* secara berhadapan dengan jarak 3 cm (Gambar 4). Lima isolat terbaik dari hasil seleksi antagonis diuji kemampuan antagonisnya terhadap bakteri *R. solani*. Rancangan percobaan yang dilakukan yaitu Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan yaitu isolat bakteri filofosfer kode A9, A10, A22, B17, B20, dan kontrol menggunakan fungisida berbahan aktif mancozeb.



Gambar 2. Sketsa pengujian *in vitro* pada cawan petri A: jamur *R. solani*; B: bakteri antagonis filofosfer

3.4.6 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solani*

Bakteri filofosfer yang bersifat antagonis selanjutnya diidentifikasi lebih lanjut untuk mengetahui sifat-sifat morfologis dan biokimia. Identifikasi bakteri mengacu pada buku pedoman *Bergey's Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) selain itu tahapan identifikasi bakteri juga berpedoman pada Schaad *et al.*, (2001) (Gambar Lampiran 8). Identifikasi bakteri dilakukan sampai tingkat genus. Metode pengujian yang dilakukan dalam proses identifikasi adalah sebagai berikut:

Uji Gram

Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram menggunakan isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam dengan mengambil satu ose bakteri dan diletakkan di atas gelas objek kemudian ditambahkan aquades. Suspensi bakteri kemudian difiksasi di atas bunsen. Suspensi bakteri diberi kristal violet (5%) sebanyak dua tetes dan dibiarkan selama satu menit. Gelas objek kemudian dicuci menggunakan air mengalir, dikeringanginkan di atas bunsen dan disemprot alkohol 70%. Gelas objek dibilas lagi dengan air mengalir, dikering anginkan di atas bunsen dan bakteri diamati di bawah mikroskop, apabila sel bakteri menunjukkan warna merah maka bakteri termasuk gram negatif sedangkan sel bakteri yang berwarna ungun termasuk bakteri gram positif.

Uji KOH

menggunakan isolat bakteri berumur 24 jam dengan mengambil satu ose bakteri dalam bentuk suspensi diletakkan di atas gelas objek dan ditambahkan KOH 3% sebanyak dua tetes. Suspensi diaduk menggunakan jarum ose, diangkat secara cepat dan berkali-kali. Bakteri gram negatif menunjukkan dengan suspensi bakteri yang lengket, berlendir dan membentuk seperti benang apabila ditarik dengan jarum ose. Sedangkan apabila suspensi bakteri encer dan tidak lengket atau tidak melekat pada jarum ose maka bakteri termasuk kedalam golongan bakteri gram positif.

Uji Oksidatif-Fermentatif (OF)

Uji oksidatif-fermentatif bertujuan untuk mengetahui sifat pertumbuhan bakteri berdasarkan pada oksidasi-fermentasinya. Pengujian isolat bakteri dengan cara menginokulasikan kedalam media OF menggunakan jarum ose. Setiap bakteri diinokulasikan kedalam dua tabung yaitu dengan tabung yang berisi media dengan agar teknis sebanyak 1 ml sebagai penutup, sedangkan tabung selanjutnya dibiarkan tanpa diberi agar teknis. Media diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari, apabila terjadi perubahan warna yaitu dari biru menjadi kuning pada tabung yang diberi agar teknis maka pertumbuhan bakteri bersifat fermentatif kemudian apabila tidak terjadi perubahan warna maka pertumbuhan bakteri adalah oksidatif.

Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas enzim katalase pada bakteri. Tahapan yang perlu dilakukan pada uji katalase dengan mengambil 1 ose bakteri dan

diletakkan di atas gelas objek kemudian ditetesi H_2O_2 3%. Suspensi bakteri yang tampak berbuih dan bergelembung saat ditetesi H_2O_2 maka menunjukkan hasil yang positif, sedangkan apabila suspensi tidak menunjukkan adanya buih atau gelembung maka menandakan hasil reaksi yang negatif.

Pigmen Flourescent pada Media King'B

Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media King'B dan diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu ruang. Koloni bakteri yang sudah tumbuh, diamati di bawah sinar UV untuk melihat koloni tampak berpendar atau tidak. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya pigmen *flourescent* yang berwarna biru atau jingga, sedangkan reaksi negatif tidak memiliki pigmen *fluorescent*.

Pewarnaan Spora

Pengujian pewarnaan spora menggunakan isolat bakteri yang telah diinkubasi selama 24 jam. Metodenya yaitu mengambil 1 ose bakteri dan ditambahkan aquades. Selanjutnya bakteri pada gelas objek difiksasi di atas bunsen. Bakteri kemudian ditetesi *malachite green* sebanyak 2 tetes dan diratakan, selanjutnya bakteri di fiksasi di atas bunsen selama 5 menit, serta ditetesi safranin dan dibiarkan selama 1 menit. Gelas objek kemudian dicuci dengan aquades. Pengamatan dilakukan menggunakan bantuan mikroskop dengan perbesaran 1000x, apabila menunjukkan spora berwarna hijau pada saat pengamatan maka menunjukkan bahwa bakteri mampu menghasilkan spora.

3.5 Variabel Pengamatan

3.5.1 Variabel Pengamatan Uji dalam Cawan Petri

Zona Hambat Bakteri Filosfer terhadap Bakteri Patogen *R. solani* dalam Cawan Petri.

Pengamatan berupa zona hambat yang terbentuk akibat hambatan bakteri filosfer terhadap jamur patogen. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk di sekitar koloni. Pengamatan dilakukan dengan cara menghitung selisih jari-jari pertumbuhan patogen *R. solani* antara perlakuan kontrol dibandingkan dengan perlakuan menggunakan isolat bakteri antagonis filosfer dari

tumbuhan legum di UB *Forest*. Perhitungan persentase zona hambat menggunakan rumus (Rhoklani *et al.*, 2005):

$$I = \frac{R1 - R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan :

I : Persentase Daya Hambat

R1 : Jari-Jari Koloni Jamur Patogen *R. solani* yang Menjauhi Antagonis

R2 : Jari-Jari Koloni Jamur Patogen *R. solani* yang Mendekati Antagonis

Dokumentasi Luas Hambatan Bakteri Filosfer terhadap Bakteri Patogen *R. solani* dalam Cawan Petri.

Dokumentasi merupakan variabel kualitatif yang digunakan sebagai bukti kemampuan hambatan bakteri filosfer terhadap bakteri patogen. Pengambilan gambar dilakukan setiap 24 jam sekali selama 2 hari.

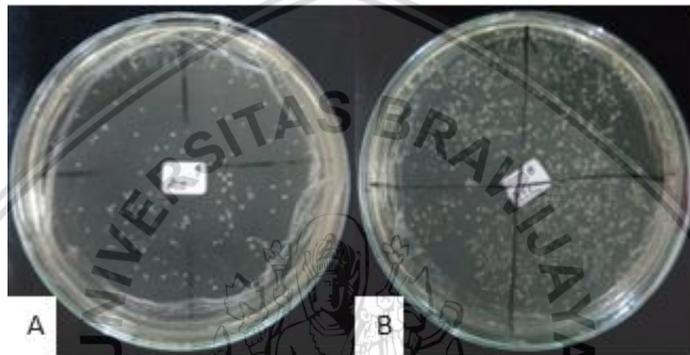
3.6 Analisis Data

Untuk melihat persentase daya hambat isolat bakteri yang terbaik dibandingkan kontrol fungisida, maka data dianalisis dengan sidik ragam (ANOVA). Apabila hasil berbeda nyata maka dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf kesalahan 5%. Analisis data diolah menggunakan Microsoft excel 2010 dan DSAASTAT.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Seleksi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis dari Tumbuhan Legum di UB Forest

Tumbuhan legum diambil di UB Forest yang berlokasi di Dusun Sumpersari, Desa Tawang Argo, Kecamatan Karangploso, Kabupaten Malang. Hasil eksplorasi bakteri filofosfer tumbuhan legum didapat 30 isolat bakteri (Gambar 5). Menurut Morris dan Kinkel (2002) menyatakan bahwa komunitas mikroba dari filofosfer sangat beragam. Mikroba-mikroba tersebut terdiri dari banyak genus bakteri dan jamur.



Gambar 1. Hasil Isolasi bakteri filofosfer 24 jam setelah inokulasi pada media NA. A: pengenceran 10^{-5} dan B: pengenceran 10^{-3}

Hasil seleksi yang dilakukan pada 30 bakteri filofosfer terdapat 10 bakteri yang bersifat antagonis, dari 10 bakteri dipilih sebanyak 5 bakteri. Bakteri filofosfer dengan kode isolat A9, A10, A22, B17, dan B20 memiliki daya hambat tertinggi dibandingkan dengan kode isolate lain (Tabel 1). Persentase zona hambat pada masing-masing isolat yang tertinggi sampai dengan terendah yaitu kode A9 dan A10 dengan persentase penghambatan 66%, isolat B20 dengan persentase penghambatan 62%, dan isolat A22 serta isolat B17 dengan persentase penghambatan 60%. Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa 5 isolat bakteri memiliki potensi penghambatan jamur patogen *R. solani* lebih baik, hal ini menunjukkan bahwa bakteri filofosfer tersebut diduga mampu untuk menekan pertumbuhan jamur patogen *R. solani*. Menurut Baskaran *et al.*, (2012) menyatakan bahwa, pada filofosfer terdapat mikroorganisme yang sinergistik dengan

tanaman yang menghasilkan, seperti senyawa bioaktif, untuk melindungi inangnya dari serangan mikroba patogen.

Tabel 1. Persentase zona hambat yang dibentuk oleh bakteri filosfer dalam menghambat *R. solani* pada 48 jam setelah inokulasi

| Isolat Bakteri Filosfer | Zona Hambat (%) | Isolat Bakteri Filosfer | Zona Hambat (%) |
|----------------------------|--------------------|----------------------------|--------------------|
| B3 | 0 | C26 | 0 |
| C4 | 0 | B8 | 0 |
| A9 | 66 | B18 | 53 |
| C21 | 0 | C14 | 0 |
| B17 | 60 | B10 | 0 |
| B21 | 0 | C13 | 0 |
| B14 | 45 | B20 | 62 |
| B12 | 31 | A20 | 55 |
| B11 | 0 | C12 | 0 |
| B5 | 0 | B13 | 0 |
| A10 | 66 | A22 | 60 |
| B9 | 0 | B16 | 0 |
| B2 | 0 | B22 | 0 |
| C9 | 0 | C10 | 0 |
| C11 | 50 | C20 | 0 |

4.2
Uji

Hipersensitif

Uji hipersensitif dilakukan menggunakan tanaman tembakau. Tujuan dari uji hipersensitif yaitu untuk mengetahui apakah bakteri yang didapat bersifat patogen atau bukan patogen. Hasil uji hipersensitif 10 bakteri filosfer menunjukkan 5 bakteri tidak ada gejala nekrotik pada daerah inokulasi bakteri dan 5 bakteri menunjukkan gejala nekrotik (Gambar 6). Perubahan warna nekrotik pada daun yang telah diinokulasikan menandakan bakteri termasuk patogen tanaman (Agrios, 2005).



Gambar 2. Hasil pengujian hipersensitif bakteri filofser antagonis A10 pada daun tembakau menunjukkan hasil negatif tanpa gejala nekrotik

4.3 Uji Antagonis Bakteri Filofser terhadap Patogen *R. solani* Secara *In vitro*

Bakteri antagonis filofser dari tumbuhan legum yang telah diseleksi selanjutnya diuji penghambatannya terhadap patogen *R. solani* dengan metode kultur ganda (Gambar 7). Lima isolat terbaik yang telah diseleksi sebelumnya, kemudian diuji lanjut menggunakan rancangan acak lengkap dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan. Pengamatan zona hambat bakteri antagonis terhadap jamur patogen *R. solani* dilakukan pada 24 JST dan 48 JST.

Hasil analisis data pada pengamatan 24 JST menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan nyata persentase zona hambat antara perlakuan bakteri filofser dengan kontrol (Tabel 2). Pada pengamatan 48 JST terdapat perbedaan nyata antara perlakuan B20 dengan fungisida. Berdasarkan hasil persentase zona hambat dapat diketahui bahwa isolat B20 memiliki penghambatan yang lebih baik dibandingkan dengan fungisida.

Tabel 2. Rerata persentase zona hambat bakteri antagonis terhadap jamur patogen *R. solani*

| Perlakuan | Rerata Persentase Zona Hambat (%) | |
|----------------------|-----------------------------------|-----------|
| | 24 JST | 48 JST |
| Fungisida (Mancozeb) | 8.75 | 13.56 bc |
| A9 | 7.49 | 18.33 abc |
| A10 | 3.12 | 18.33 abc |
| A22 | 22.23 | 31.06 ab |
| B17 | 12.49 | 4.16 c |
| B20 | 14.07 | 43.33 a |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%. JST (jam setelah tanam)

Kemampuan suatu bakteri filofser yang bersifat antagonis mampu menghasilkan senyawa antibiotik. Menurut Strobel and Daisy (2003) terbentuknya zona hambat menandakan bahwa bakteri antagonis tersebut menghasilkan

antibiotik. Isolat bakteri yang menunjukkan hasil berbeda nyata terhadap perlakuan kontrol fungisida berbahan aktif mancozeb yaitu isolat B20 yang merupakan bakteri dari genus *Pseudomonas*. Berdasarkan laporan Soesanto *et al.*, (2010) *P. fluorescens* P60 merupakan salah satu strain bakteri antagonis yang mempunyai kemampuan mengendalikan beberapa patogen tanaman, khususnya patogen tular tanah secara *in vitro*. Berdasarkan hasil penelitian Wibisono (2014) pada uji *In vitro* strain yang paling berpotensi dalam menghambat *R. solani* adalah *P. fluorescens* strain 1 (77%),



Gambar 3. Hasil penghambatan bakteri filofser antagonis terhadap pertumbuhan *R. solani* 48 JST pada media PDA. A: Isolat A9; B: Isolat A10

4.4 Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri Filosfer yang Bersifat Antagonis terhadap Patogen *R. solani*

4.4.1 Karakteristik Morfologi

Bakteri filofser yang telah diseleksi selanjutnya dimurnikan untuk mendapatkan biakan murni. Hasil biakan murni berupa koloni tunggal kemudian diamati di bawah mikroskop. Pada koloni tunggal bakteri, parameter yang diamati yaitu warna, bentuk koloni, elevasi, permukaan dan margin (Tabel 3).

Tabel 3. Ciri-ciri morfologi bakteri filofser yang terseleksi

| Isolat Bakteri Filosfer | Karakteristik | | | | |
|-------------------------------|---------------|--------|---------|------------|-----------|
| | Warna | Bentuk | Elevasi | Margin | Permukaan |
| A9 | Putih keruh | Bulat | Datar | Tidak rata | Kasar |

| | | | | | |
|-----|------------------|-------|---------|------------|--------|
| A10 | Putih keruh | Bulat | Datar | Tidak rata | Kasar |
| A22 | Putih bening | Bulat | Cembung | Rata | Mukoid |
| B17 | Kuning keputihan | Bulat | Cembung | Rata | Mukoid |
| B20 | Putih bening | Bulat | Cembung | Rata | Mukoid |

Berdasarkan hasil pengamatan ciri-ciri morfologi bakteri filosfer yang terseleksi memiliki keragaman pada pengamatan warna, pada pengamatan bentuk semua isolat mempunyai bentuk yang sama yaitu bulat, pada pengamatan elevasi hanya terdapat 2 yaitu datar dan cembung, pengamatan margin juga hanya 2 yaitu rata dan tidak rata, dan pada pengamatan permukaan terdapat 2 yaitu mukoid dan kasar. Pengamatan isolat bakteri antagonis filosfer menggunakan mikroskop dapat di lihat pada (gambar 8).



Gambar 4. Bentuk koloni bakteri filosfer antagonis terhadap *R. solani*. A: isolat A9; B: isolat A10; C: isolat A22; D: isolat B17; E: isolat B20

4.4.2 Karakterisasi Bakteri secara Fisiologi dan Biokimia

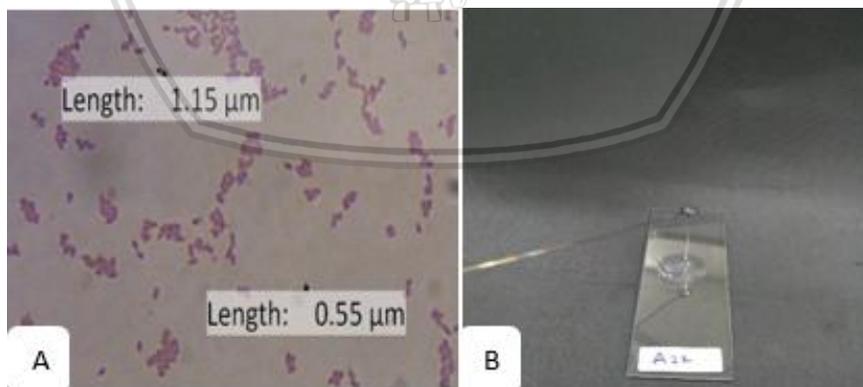
Pengujian fisiologi dan biokimia berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan (Schaad *et al.*, 2001) meliputi uji hipersensitif, uji KOH, uji pewarnaan gram, uji katalase, uji oksidatif-fermentatif, uji

pengecatan spora, dan uji pigmen fluorescen pada media King's B. Hasil pengujian fisiologi dan biokimia dapat dilihat pada tabel 4.

1. Hasil Uji Gram

Uji gram yang dilakukan terdiri dari dua uji yaitu pewarnaan gram dan KOH 3%. Tujuan dari uji gram yaitu untuk mengetahui sebuah bakteri termasuk gram negatif atau positif. Hasil dari dua uji tersebut terhadap 5 isolat bakteri filofser yang bersifat antagonis yaitu pada isolat A9, A10, dan B17 termasuk gram positif sedangkan isolat A22 dan B20 termasuk gram negatif (Gambar 9). Gram negatif ditandai dengan warna merah sedangkan gram positif ditandai dengan warna ungu ketika diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Menurut Schaad *et al.* (2001) Hasil uji gram dengan teknik pewarnaan untuk bakteri positif berwarna ungu sampai biru kehitaman sedangkan gram negatif berwarna merah.

Hasil dari uji KOH 3%, isolat A9, A10 dan B17 menunjukkan tidak ada lendir pada saat ose ditarik, sedangkan pada isolat A22 dan B20 menunjukkan hasil kental, berlendir dan ketika ose ditarik membentuk seperti benang (Gambar 9). Berdasarkan Powers (1995) apabila bakteri gram negatif direaksikan dengan KOH 3% berubah menjadi kental dan berlendir, sedangkan bakteri gram positif bila direaksikan dengan KOH 3% tidak merubah bakteri menjadi kental dan berlendir.



Gambar 5. Hasil pengujian gram bakteri filofser antagonis terhadap *R. solani* isolat A20. A: pewarnaan sel menghasilkan warna merah; B: Uji KOH 3% menghasilkan lendir.

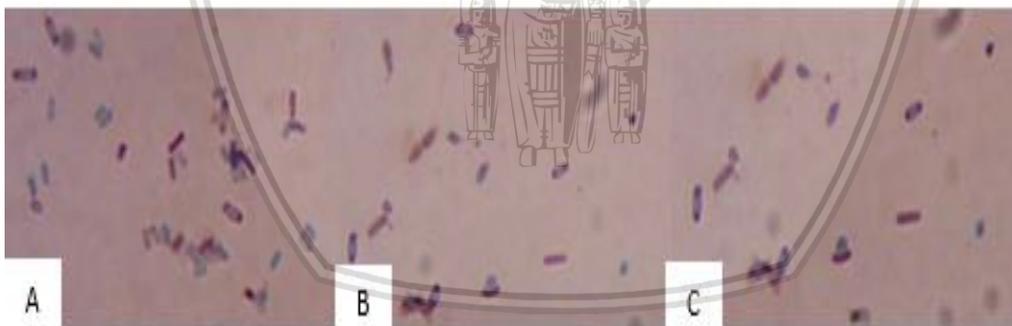
Tabel 4. Karakterisasi uji fisiologis dan biokimia pada bakteri

| Karakterisasi | Isolat | | | | |
|--|--------|-----|-----|-----|-----|
| | A9 | A10 | A22 | B17 | B20 |
| Uji KOH | + | + | - | + | - |
| Uji pewarnaan Gram | + | + | - | + | - |
| Uji pengecatan spora | + | + | TU | + | TU |
| Uji oksidatif dan fermentative | F | F | O | F | O |
| Uji pigmen fluorescens pada media King's B | TU | TU | + | TU | + |
| Uji katalase | + | + | + | + | + |

Keterangan : karakterisasi uji fisiologis dan biokimia pada bakteri. (-) reaksi negative, (+) reaksi positif, (F) fermentative, (O) oksidatif, (TU) tidak dilakukan uji

2. Hasil Pengecatan Spora

Uji pengecatan spora adalah uji untuk mengetahui apakah bakteri menghasilkan endospora atau tidak. Uji pengecatan spora dilakukan pada bakteri gram positif yaitu bakteri A9, A10, dan B17 (Gambar 10). Menurut Puspitasari *et al.* (2012) endospore merupakan struktur bakteri untuk bertahan dari kondisi tercekam seperti kering, pembekuan, kekurangan nutrisi dan bahan kima. Spora yang terlihat di bawah mikroskop perbesaran 1000x berwarna hijau bening. Bentuk dari endospora yaitu bulat lonjong.



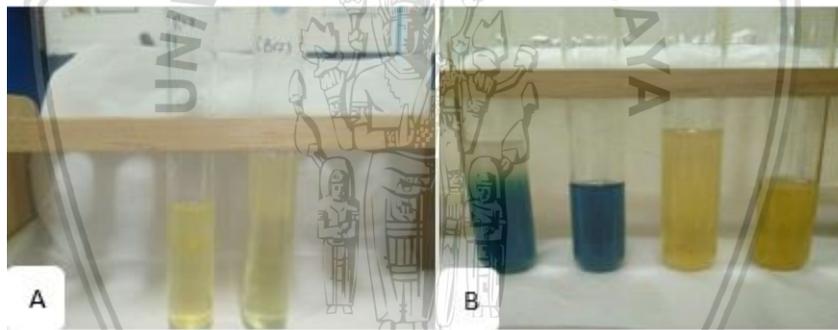
Gambar 6. Hasil pengecatan spora bakteri antagonis terhadap *R. solani*. A: isolat A9; B: isolat A10; C: isolat B17

3. Hasil Uji Oksidatif dan Fermentatif

Hasil pengujian oksidatif dan fermentatif, diketahui bahwa 3 isolat bakteri bersifat fermentatif dan 2 isolat bakteri bersifat oksidatif. Bakteri yang bersifat fermentatif yaitu isolat A9, A10, dan B17 sedangkan, bakteri yang bersifat oksidatif yaitu isolat A22 dan B20. Bakteri yang bersifat fermentatif ditandai dengan media yang ditutup dengan *water agar* terjadi perubahan warna menjadi kuning sedangkan bakteri

yang bersifat oksidatif ditandai dengan media yang ditutup dengan *water agar* tidak ada perubahan warna.

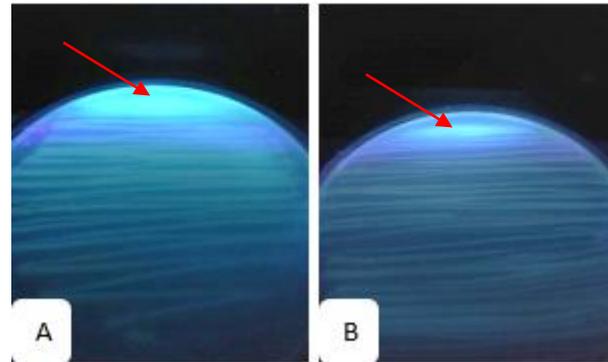
Isolat A22 dan B20 merupakan bakteri yang bersifat oksidatif yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna pada media yang ditutup *water agar* menandakan bahwa bakteri hanya mampu melakukan fermentasi glukosa pada media yang tidak tertutup *water agar*. Isolat A9, A10, dan B17 merupakan bakteri yang bersifat fermentatif ditandai dengan adanya perubahan warna pada media yang ditutup *water agar* ini menandakan bahwa bakteri mampu melakukan fermentasi glukosa pada media yang tidak tertutup dan tertutup *water agar*, dapat dilihat pada gambar 11. Menurut Schaad *et al.* (2001) Bahwa reaksi oksidatif bernilai positif pada media yang tertutup paraffin cair tidak terjadi perubahan, sedangkan reaksi fermentatif bernilai positif apabila media yang tertutup maupun tidak tertutup paraffin cair terjadi perubahan warna dari biru ke kuning.



Gambar 7. Hasil pengujian oksidatif fermentatif bakteri antagonis terhadap *R. solani*. A: isolat B17; B: kontrol

4. Hasil Uji Pigmen Fluorescens pada Media King'B

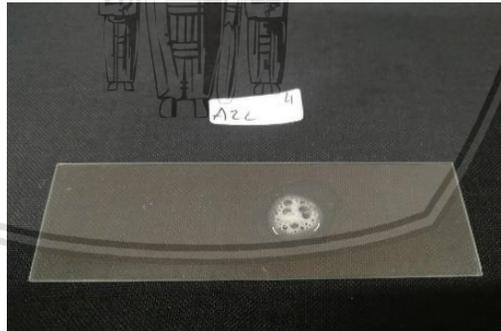
Pengujian pigmen fluorescens pada media King'B untuk mengetahui apakah bakteri mampu menghasilkan pigmen fluorescens. Hasil pengamatan di bawah sinar UV bakteri yang di streak pada media King'B terdapat dua bakteri yang menghasilkan pigmen fluorescens yaitu isolat A22 dan B20 (Gambar 12). Kedua isolat bakteri tersebut menghasilkan pigmen fluorescens yang merupakan ciri khusus bakteri genus *Pseudomonas*. Pigmen fluorescens yang muncul pada bakteri setelah ditumbuhkan pada media King'B termasuk golongan *Pseudomonas fluorescens* (Schaad *et al.*, 2001).



Gambar 8. Hasil uji pigmen fluorescens bakteri antagonis terhadap *R. solani*.
A: Isolat A22; B: Isolat B22

5. Hasil Uji Katalase

Pengujian katalase menggunakan H_2O_2 pada preparat yang terdapat bakteri filofiter. Reaksi positif apabila bakteri yang di preparat menghasilkan gelembung. Hasil dari uji katalase menunjukkan semua isolat bakteri filofiter positif bereaksi terhadap H_2O_2 . Gelembung yang dihasilkan merupakan hasil dari reaksi enzim yang dihasilkan bakteri terhadap H_2O_2 (Gambar 13). Menurut Yustianita (2015) enzim katalase akan menguraikan H_2O_2 menjadi oksigen dan air.



Gambar 9. Hasil uji katalase bakteri antagonis terhadap *R. solani* menunjukkan reaksi positif yaitu menghasilkan gelembung isolat A22

4.4.3 Hasil Identifikasi Bakteri Filofiter Tumbuhan Legum

Hasil identifikasi kelima bakteri antagonis terbaik hingga tingkat genus berdasarkan *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* (Holt dan Krieg, 1984) dan Schaad *et al.*, (2001) sebagai berikut:

a. *Clostridium*

Isolat bakteri A9 dan A10 diamati secara morfologi memiliki warna putih keruh, bentuk koloni bulat, elevasi datar, permukaan kasar, dan margin tidak rata. Sedangkan pada isolat B17 memiliki warna kuning keputihan bentuk koloni bulat, elevasi cembung, permukaan mukoid, dan margin rata. Pengujian fisiologi dan biokimia pada isolat A9, A10, dan B17 menunjukkan bakteri termasuk bakteri bergram positif berbentuk batang, bersifat fermentatif, menghasilkan spora yang berbentuk bulat oval, pengujian katalase bereaksi positif dan tidak termasuk patogen saat uji hipersensitif. Menurut Sari (2018) *Clostridium* merupakan genus dari bakteri Gram-positif, berbentuk batang dan bersifat anaerob yang mampu menghasilkan endospora.

b. *Pseudomonas*

Isolat bakteri A22 dan B20 diamati secara morfologi memiliki warna putih bening, bentuk koloni bulat, elevasi cembung, permukaan mukoid, dan margin rata. Pengujian fisiologi dan biokimia menunjukkan bakteri termasuk bakteri bergram negatif berbentuk batang, bersifat oksidatif, pengujian katalase bereaksi positif, mampu berpendar memiliki pigmen fluorescens, dan tidak termasuk patogen saat uji hipersensitif. Menurut Suyono and Salahudin (2011) pada bakteri bergenus *Pseudomonas* memiliki ciri morfologi bentuk batang dan bergram negatif. Pertumbuhan bersifat aerobik dan sifat biokimia katalase positif.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa:

1. Eksplorasi bakteri filosfer tanaman legum lamtoro dan johar menghasilkan 30 isolat bakteri. Hasil seleksi yang telah dilakukan didapat 5 isolat terbaik.
2. Berdasarkan uji daya hambat bakteri antagonis secara *in vitro* diketahui bahwa semua isolat berpotensi menghambat pertumbuhan jamur patogen *R. solani*.
3. Hasil identifikasi 5 isolat bakteri terbaik dalam menghambat pertumbuhan jamur patogen *R. solani* yakni isolat A9, A10, B17 berasal dari genus *Clostridium* sp. Sedangkan isolat A22 dan B20 berasal genus *Pseudomonas* sp.

5.2 Saran

Saran untuk penelitian ini adalah:

1. Perlu pengujian tingkat DNA pada isolat bakteri yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur patogen *R. solani* agar mengetahui spesies secara pasti
2. Perlu dilakukan pengujian tingkat lapang

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Professor and Chairman Dept. of Plant Pathology University of Florida. Guinesville: Academic Press Inc, 593-599.
- Baskaran, C., Bai, V.R., Velu, S. and Kumaran, K. 2012, The Efficacy of Carica papaya Leaf Extract On Some Bacterial and A Fungal Strain by Well Diffusion Method, Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 658–662.
- Beattie. 2002. Leaf Surface Waxes and the Process of Leaf Colonization by Microorganism. In : Lindow SE. editor phyllosphere microbiology. Minnesota, 3-26.
- Dian, O. 2016. Universitas Brawijaya Resmi Miliki Hutan Pendidikan. Available at <https://prasetya.ub.ac.id/berita/UB-Resmi-Miliki-Hutan-Pendidikan-18947-id.html>
- Domsch, K.H., Gams, W., and Anderson T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi. Academic Press, London, 833-840
- Hendrati, R.L., dan Hidayati, N. 2014. Budidaya Johar (*Cassia seamea*) untuk Antisipasi Kondisi Kering. IPB Press: Bogor, 1-3.
- Heyne, K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesi. Jakarta. Yayasan Sarana Wanajaya, 827- 926.
- Hirano, S.S., and Upper, C.D. 2000. Bacteria in the Leaf Ecosystem with Emphasis on *Pseudomonas syringae*, a Pathogen, on ice Nucleus and Ephypite. Microbiolmol biol rev, 624-653.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T., and Williams, S.T. 1994. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia, 562-570.
- Khaeruni, A., dan Rahman, A. 2012. Penggunaan Bakteri Kitinolitik sebagai Agens Biokontrol Penyakit Busuk Batang oleh *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai. Universitas Haluoleo, Kendari, 42.
- Lindow, S.E., and Brandl, M.T. 2003. Microbiology of the Phyllosphere. Appl Environ Microbiol, 1875.
- Morris, C.E., and Kinkel, L.L. 2002. Fifty years of Phyllosphere Microbiology: significant contributions to research in related fields. In: Phyllosphere Microbiology. (eds.) Lindow, S.E., E.I. Hecht-Poinar and V.J. Elliott. V.J. pp. 139-155. St. Paul, USA: APS press.
- Nurfitriani, R., Khrishanti, N.P.R.A., Akhdiya, A., dan Wahyudi, A.T. 2016. Penapisan Bakteri Filosfer Penghasil Senyawa Bioaktif Anti *Xanthomonas*

- oryzae* pv. *oryzae* Penyebab Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Padi. Departemen Biologi, Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, 20.
- Muksin, R., Rosmini, dan Panggeso, J. 2013. Uji Antagonisme *Trichoderma* sp. terhadap Jamur Patogen *Alternaria porri* Penyebab Penyakit Bercak Ungu pada Bawang Merah secara *In-Vitro*. Jurnal Agrotekbis, 141.
- Powers, E.M. 1995. Efficacy of the Ryu Nonstaining KOH Technique for Rapidly Determining Gram Reaction of Food-Borne and Water Borne Bacteria dan Yeast. J Appl. Environ. Microbial, 3756-3758.
- Pracaya. 2008. Hama dan Penyakit Tanaman. Jakarta: Penebar Swadaya, 341.
- Purwanto, I. 2007. Mengenal Lebih Dekat Leguminosae. Yogyakarta: Kanisius, 18 - 84
- Puspitasari, F.D., Shovitri, M., dan Kuswytasari, N.D. 2012. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik. Jurnal Sains dan Seni ITS, 2-3.
- Santosa, D.A., Handayani, N., dan Iswandi, A. 2003. Isolasi dan Seleksi Bakteri Filosfer Pemicu Tumbuh dari Daun Padi. Jurnal Tanah Lingkungan, 7-12.
- Sari, P.K. 2018. Bakteri *Clostridium* sp (Morfologi dan patogenitas bakteri anaerob penyebab infeksi pada manusia). Akademi analisis kesehatan Borneo. Banjarbaru, 2.
- Schaad, N.J., Jones, W., and Chun, W. 2001. Laboratory Guide for the Identification of Plant Pathogenic Bacteria. APS Press.
- Slawson, D.D. 1998. The Role of Registration in the Management of Fungicide Resistance, p. 281-290. In H. Lyr, P.E. Russell, H.W. Dehne, & H.D. Sisler (eds.), Modern Fungicides and Antifungal Compounds II, Intercept Andover.
- Soenartiningih, Akil, M., dan Andayani, N.N. 2015. Cendawan Tular Tanah (*Rhizoctonia solani*) Penyebab Penyakit Busuk Pelepah pada Tanaman Jagung dan Sorgum dengan Komponen Pengendaliannya. Jurnal Iptek Tanaman Pangan, 86.
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., dan Rahayuniati, R.E. 2010. Kajian Mekanisme Antagonis *Pseudomonas fluorescens* P60 Terhadap *Fusarium oxysporum* F.Sp. *Lycopersici* Pada Tanaman Tomat *In Vivo*. Jurnal HPT Tropika, 108 –115.
- Strobel, G., and Daisy, B. 2003. Bioprospecting for Microbial Endophytes and Their Natural Products: Microbiology and Molecular Biology Reviews. J. Microbiol, 491-502.
- Sumartini. 2011. Penyakit Tular Tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) pada Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian serta Cara Pengendaliannya. Jurnal Litbang Pertanian, 27-31.

- Suyono, Y., dan Salahudin, F. 2011. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Pseudomonas* Pada Tanah Yang Terindikasi Terkontaminasi Logam. Jurnal Biopropal Industri, 10.
- Wei, G., Klopper, J.W., and Tuzun, S. 1990. Induction of systemic resistance of cucumber to *Colletotrichum orbiculare* by selected strain of plant growth promoting rhizobacteria. Phytopathology, 1508-1512.
- Wibisono, A., Majid, A., dan Mihardjo, P.A. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens* Untuk Mengendalikan Patogen Jamur *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kedelai. Jurnal Berkala Ilmiah Pertanian, 4.

