

EFEKTIVITAS BEBERAPA ISOLAT *Bacillus spp* UNTUK MENGENDALIKAN PATOGEN JAMUR *Rhizoctonia solani* PADA TANAMAN KEDELAI

Effectiveness of Multiple Isolates Bacillus spp For Controlling Pathogenic Fungus Rhizoctonia Solani In Soybean

Musa Khadim, Paniman Ashna Mihardjo*, Abdul Majid

Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jln. Kalimantan 37, Jember 68121

*E-mail : pasmihar@gmail.com

ABSTRACT

Rhizoctonia solani is a soil-borne pathogens. *R.solani* is very difficult to control because the can be sklerotia forming in the soil, the use of pesticides is not effective because pesticides are not specifically kill fungus *R.solani* which was formed a sklerotia well as excessive the use of pesticides and are not as recommended to control will be have a negative impact on the environment, so it requires another controls by using the biological agents, one of them is antagonist bacteria *Bacillus spp*. *Bacillus spp*. is one of the groups of gram positive bacteria are often be used as a biological control of root disease. Members of the genus have advantages, because the bacteria form spores are easily stored, has a long life durability, and relatively easy inoculated into the soil. The methods used in this research using two steps, first step is *in-vitro* and Second step is *in-vivo* testing. this research was using a completely randomized design (CRD) factorial test and Duncan of 5%. *In-vitro* test using a completely randomized design (CRD) with one factor with is *Bacillus spp* treated with 7 level (*Bacillus spp* strains 1 through 7). In the *in-vivo* test using a completely randomized design (CRD) factorial two factors, the first factor using (A) *Rhizoctonia solani* (RS) with 2 level (A0 = Without *R. solani*, A1 = with *R. solani*), the second factor is the factor (B) with 7 level of *Bacillus spp* (*Bacillus spp* strains 1 through 7). The results of this research showed on the *in-vitro* test with the parameters BS1 the inhibition of treated (100%) and BS4 (100%) showed the best results and to test *in-vivo* treated BS6 showed the best results.

Keywords: Soybean, *Bacillus spp*; *R. solani*

ABSTRAK

Rhizoctonia solani adalah salah satu patogen tular tanah. *R.solani* ini sangat sulit dikendalikan dikarenakan dapat membentuk sklerotia didalam tanah, penggunaan pestisida tidak efektif dikarenakan pestisida tidak secara spesifik membunuh jamur *R.solani* yang telah membentuk sklerotia serta penggunaan pestisida secara berlebihan dan tidak sesuai anjuran untuk pengendalian akan berdampak negatif terhadap lingkungan, sehingga diperlukan pengendalian lain dengan menggunakan agens hayati, salah satunya yaitu bakteri antagonis *Bacillus spp*. *Bacillus spp*. merupakan salah satu kelompok bakteri gram positif yang sering digunakan sebagai pengendali hayati penyakit akar. Anggota genus ini memiliki kelebihan, karena bakteri membentuk spora yang mudah disimpan, mempunyai daya tahan hidup lama, dan relatif mudah diinokulasi ke dalam tanah. Dalam penelitian ini *Bacillus spp*. digunakan untuk mengendalikan jamur *Rhizoctonia solani* dengan pengujian secara *in-vitro* dan secara *in-vivo*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dan dilanjutkan uji Duncan taraf 5%. Pada uji *in-vitro* menggunakan 1 faktor yaitu perlakuan *Bacillus spp* dengan 7 taraf (*Bacillus spp* strain 1 sampai *Bacillus spp* strain 7). Pada uji *in-vivo* menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial 2 faktor, faktor pertama menggunakan (A) *Rhizoctonia solani* (RS) dengan 2 taraf (A0 = Tanpa *R.solani*, A1 = dengan *R.solani*) faktor kedua adalah faktor (B) dengan 7 taraf *Bacillus spp* (*Bacillus spp* strain 1 sampai *Bacillus spp* strain 7). Hasil penelitian ini menunjukkan pada uji *in-vitro* dengan parameter daya hambat perlakuan BS1 (100%) dan BS4 (100%) menunjukkan hasil yang paling baik dan pada uji *in-vivo* perlakuan BS6 menunjukkan hasil yang paling baik.

Keywords: *Bacillus spp*; *R. Solani*; Kedelai

How to cite: Khadim M., PA. Mihardjo, A. Majid. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat *Bacillus spp* Untuk Mengendalikan Patogen Jamur *Rhizoctonia solani* Pada Tanaman Kedelai. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

PENDAHULUAN

Tanaman kedelai merupakan tanaman pokok yang utama di Indonesia, namun budidaya tanaman kedelai tidak mudah banyak kendala dan faktor-faktor yang dapat membuat tanaman kedelai gagal panen dan kualitas menurun. Salah satu penyakit penting yang terdapat di tanaman kedelai yaitu penyakit rebah kecambah atau busuk batang (*Dumping-off*) yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani*.

Penyakit busuk batang yang disebabkan oleh *R.solani* merupakan salah satu penyakit jamur yang banyak menimbulkan kerugian pada tanaman kedelai. Di Indonesia, penyakit ini dapat mengakibatkan kehilangan hasil hingga 100% jika serangan terjadi pada fase awal pertumbuhan. *R.solani* ini sangat sulit dikendalikan dikarenakan dapat membentuk sklerotia didalam tanah, penggunaan pestisida yang sering digunakan oleh petani tidak efektif dikarenakan pestisida tidak secara spesifik membunuh jamur *R.solani* yang telah membentuk sklerotia serta penggunaan pestisida secara berlebihan dan tidak sesuai anjuran untuk pengendalian penyakit ini berdampak negatif terhadap lingkungan, sehingga diperlukan pengendalian lain dengan menggunakan agens hayati, salah satunya yaitu bakteri antagonis *Bacillus spp*.

Penggunaan bakteri antagonis merupakan salah satu komponen pengendalian yang mulai banyak mendapat perhatian karena memiliki beberapa keuntungan, antara lain (i) tidak mengandung bahan beracun yang bisa menimbulkan residu pada rantai makanan dan pencemaran lingkungan, (ii) tidak memerlukan aplikasi berulang karena bakteri dapat memperbanyak diri selama lingkungan mendukung perkembangannya, (iii) tidak menimbulkan efek samping terhadap organisme yang bermanfaat pada tanaman, dan (iv) dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap serangan patogen (Wei et al. 1991).

Bacillus spp. merupakan salah satu kelompok bakteri gram positif yang sering digunakan sebagai pengendali hayati penyakit akar. Anggota genus ini memiliki kelebihan, karena bakteri membentuk spora yang mudah disimpan, mempunyai daya tahan hidup lama, dan relatif mudah diinokulasi ke dalam tanah. *Bacillus sp*. telah terbukti memiliki potensi sebagai agens pengendali hayati yang baik, misalnya terhadap bakteri patogen seperti *R.solani* (Sumardi, 2009).

Beberapa strain bakteri *Bacillus spp* membentuk lebih dari satu jenis antibiotik (Tamtip, 2011). Setiap strain bakteri *Bacillus spp* memiliki berbagai macam kemampuan yang berbeda. Jenis antibiotik yang dihasilkan tersebut antara lain berupa iturin, surfactin, fengicin,

polymyxin, diflicidin, subtilin, dan mycobacilin (Keet, 1990), selain itu *Bacillus spp.* dapat menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk mengembangkan sistem pertanian berkelanjutan. Fitohormon yang dihasilkan bakteri tanah ini dapat membantu pertumbuhan tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung fitohormon dari bakteri menghambat aktivitas patogen pada tanaman, sedangkan pengaruh secara langsung fitohormon tersebut adalah meningkatkan pertumbuhan tanaman dan dapat bertindak sebagai fasilitator dalam penyerapan beberapa unsur hara dari lingkungan (Gupta, 1999). Dengan mengetahui kemampuan setiap strain *Bacillus spp* yang diberikan akan memudahkan untuk mengendalikan jamur *R.solani* secara maksimal.

Oleh karena itu diperlukan penelitian untuk mengetahui potensi setiap strain yang berbeda dari isolat *Bacillus spp.* terhadap serangan dari patogen jamur *R.solani* pada tanaman kedelai.

BAHAN DAN METODE

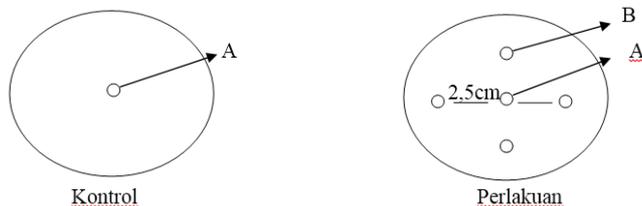
Isolasi Patogen Jamur Rhizoctonia solani. Isolasi patogen dilakukan dengan cara pengambilan isolat dari tanaman yang telah terserang penyakit rebah kecambah, tanaman yang terserang kemudian diisolasi ke media PDA selama 7 hari setelah diisolasi tahap selanjutnya melakukan identifikasi untuk mengetahui jamur yang menyerang, setelah diidentifikasi dan didapatkan isolat murni yang siap digunakan kemudian dilakukan perbanyakan pada media PDA.

Peremajaan dan Perbanyakan agensia pengendali hayati.

Isolat *Bacillus spp* dari koleksi Ir. Abdul Majid MP, bakteri kemudian di remajakan pada media NA dengan waktu kurang lebih 24 – 48 jam. .

Uji Antagonisme Bakteri Antagonis terhadap Patogen.

Pengujian bakteri antagonis *Bacillus spp* terhadap patogen jamur *R. solani* dilakukan pada media PDA. Kertas saring berdiameter 0,5 cm yang telah disterilkan dengan autoclave dimasukkan ke dalam suspensi bakteri pada masing-masing perlakuan selama 15 menit kemudian ditanam pada petridish yang berisi media PDA. Untuk patogen jamur *R. solani* cara pengambilannya dilakukan dengan menggunakan *cork borer* berdiameter 0,5 cm. Kedua isolat diletakkan seperti pada Gambar 1.



Gambar 1. Rancangan Penempatan Bakteri Antagonis *Bacillus spp* dan Patogen *Rhizoctonia solani*. (A) : *Rhizoctonia solani*; (B) : *Bacillus spp*

Analisa Data. Data yang diperoleh dari hasil pengamatan dianalisis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), hasil penelitian selanjutnya dianalisis menggunakan sidik ragam (ANOVA) dan dilakukan Uji duncan dengan taraf 5%.

Pembuatan suspensi bakteri Bacillus spp. Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pour plate. Dengan cara yang pertama melakukan pemanenan bakteri *Bacillus spp* yang telah dibuat dan di masukkan kedalam tabung elemeyer ukuran 1 liter sebanyak ½ liter aquades setelah itu mengambil 1cc suspensi bakteri *Bacillus spp* yang berada di elenmeyer ke dalam tabung reaksi yang berukuran 9 cc aquades dan di capur atau digojok setelah itu dilakukan pemindahan dari 10cc suspensi bakteri di tabung reaksi diambil lagi 1 cc dan dipindahkan ke 9 cc aquades ditabung reaksi selanjutnya di lakukan hingga pengenceran mencapai 10^{-6} dan setelah mencapai 10^{-6} kemudian memindahkan ke dalam petri yang telah di beri media NA yang sudah cair digoyang hingga suspensi yang diberikan menyebar dan ditunggu hingga 24jam. Pengujian ini dapat terjadi karena hasil akhir metode pour plate adalah berupa pertumbuhan bakteri pada dasar

medium, tengah medium, dan pada permukaan medium, kemudian dilakukan penghitungan CFU (Colony Forming Unit). Perhitungan CFU digunakan untuk mengetahui jumlah kerapatan koloni pada suspensi bakteri yang akan diberikan dengan menggunakan colony counter, dengan rumus perhitungan CFU :

$CFU's / ml = \text{jumlah koloni} \times \text{faktor pengenceran}$ (Waluyo. 2008).

Persiapan Media Tanam. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah campuran dari tanah dan pupuk kandang dengan perbandingan 1:1. Media dicampurkan hingga merata kemudian dimasukan kedalam plastik tahan panas untuk sterilisasi. Sterilisasi ini bertujuan untuk mematikan semua jenis mikroorganisme didalam media. Sterilisasi media dilakukan dengan menggunakan autoclave pada suhu $121^{\circ}C$ dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Setelah selesai kemudian di dinginkan hingga suhu ruangan. Media yang telah steril kemudian dimasukan kedalam plastik polibag ukuran 25 x 25 sebanyak ½ bagian atau ± 2 Kg media tanam.

Inokulasi bakteri Bacillus spp. Inokulasi bakteri *Bacillus spp.* dilakukan dengan cara mengambil 10cc suspensi dari *Bacillus spp.* yang telah dibuat dengan media tanah yang telah disiapkan dan dilakukan pada saat 7 hari sebelum tanam (HST).

Inokulasi patogen R. Solani. Inokulasi patogen *R. solani* dilakukan dengan dua tahap pertama meletakkan sklerotium ke dalam media sebanyak 10 sklerotium. Inokulasi patogen dilakukan bersamaan dengan tanam benih. Tahap kedua membuat suspensi *R. solani* menggunakan isolat murni sejumlah 5 petridish kemudian di campur dengan air ± 500 ml dan disemprotkan ke tanaman kedelai menggunakan sprayer penyemprotan dilakukan pada 18 hari setelah tanam.

Penanaman Benih. Sebelum benih ditanam pada tanah steril dalam polybag, media disiram menggunakan gembor hingga lembab untuk memudahkan penanaman. Setiap polybag ditanam lima benih dan di tanam di lima titik yang telah di tentukan dengan kedalam $\pm 0,5$ cm. Setelah penanaman benih selanjutnya disiram kembali untuk merekatkan benih pada media.

Perawatan Bibit. Perawatan tanaman dilakukan pada tanaman kedelai yaitu penyiraman, pembersihan gulma dan pengendalian hama dengan cara mekanik sampai selesai penelitian.

Pengamatan Berkala. Pengamatan berkala dilakukan setiap dua hari sekali dengan melihat atau memantau terjadinya perubahan kondisi dari tanaman kedelai yang telah ditanam dan gangguan lainnya.

Rancangan Percobaan. Tahap ke dua uji in-vivo dilakukan di Quoe fakultas pertanian universitas jember. Uji in-vivo dilakukan dengan penanaman tanaman kedelai, dalam polybag dengan rancangan percobaan Acak Lengkap dengan dua faktor dengan tiga taraf. Yaitu:

A0 = Tanpa *R.solani*

B0 = Tanpa *Bacillus spp.*

A1 = *R.solani*

B1 = *Bacillus spp.* Strain 1

B2 = *Bacillus spp.* Strain 2

B3 = *Bacillus spp.* Strain 3

B4 = *Bacillus spp.* Strain 4

B5 = *Bacillus spp.* Strain 5

B6 = *Bacillus spp.* Strain 6

B7 = *Bacillus spp.* Strain 7

Denah penanaman polybag tanaman kedelai sebagai berikut :

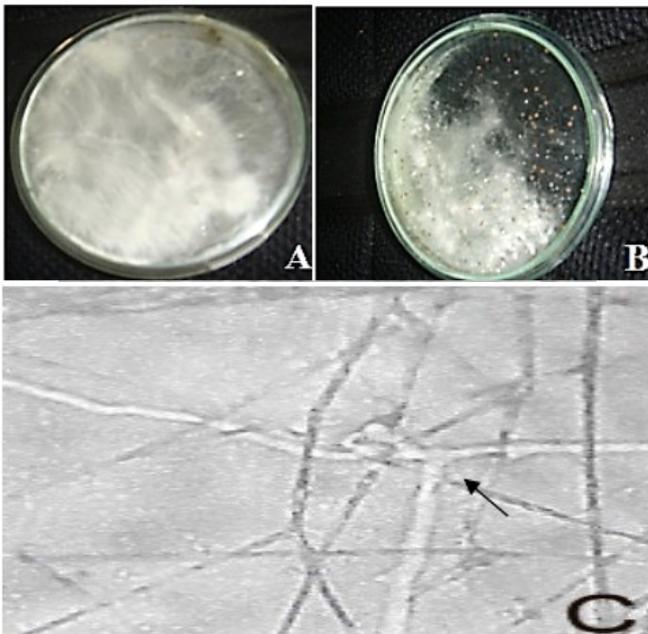
A0B0	A1B0	A0B5	A0B7	A0B2	A1B6
A1B6	A1B7	A1B5	A0B1	A1B2	A1B0
A1B2	A1B3	A0B6	A0B3	A0B7	A0B0
A1B1	A0B1	A1B3	A1B5	A1B1	A1B2
A0B4	A0B0	A0B3	A0B2	A0B5	A0B4
A0B6	A1B5	A0B2	A1B0	A0B6	A0B7
A0B5	A1B6	A0B1	A1B3	A1B4	A1B4

A1B4 A0B4 A1B7 A1B7 A0B3 A1B1

Setiap plot diisi dengan 5 benih tanaman kedelai jadi total tanaman dalam 48 plot adalah 240 benih.

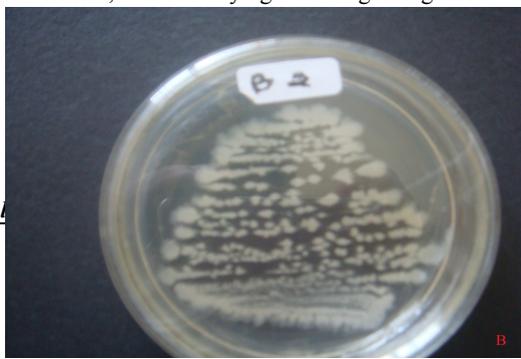
HASIL

Hasil Explorasi dan Perbanyakkan isolat patogen *Rhizoctonia solani*. Explorasi dan perbanyakkan isolat pertama tama dilakukan dengan cara mengambil sampel dari tanah selepas tanam kedelai kemudian ditumbuhkan dengan menggunakan biji kedelai kemudian hasil dari penumbuhan di pindah ke media PDA setelah melakukan pemindahan di inkubasi selama 7 hari dan dindentifikasi, hasil dari identifikasi jamur *R.solnai* dapat dilihat dari karakter hifa yang khas, yaitu percabangan yang membentuk sudut tegak lurus yang membedakan dengan jamur lainnya. Jamur ini memproduksi sklerotia berwarna cokelat kemerahan hingga hitam sebagai struktur bertahan sesuai dengan Schumann dan D'Arcy 2006.



Gambar 2. Hasil Explorasi dari beberapa semple tanah yang kemudian dikembangkan pada media PDA; (A) Isolat *R.solani* berumur 7 hari; (B) isolat *R.solani* berumur 14 Hari; (C) Morfologi atau indentifikasi isolat *R.solani* (perbesaran 10x40).

Perbanyakkan Agensi hayati Bakteri *Bacillus spp*. Perbanyakkan agensi hayati dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media NA yang kemudian di tunggu hingga 24 jam, hasil dari perbanyakkan agen hayati didapatkan pada media NA Jenis *Bacillus spp*. menunjukkan bentuk koloni yang berbeda-beda pada medium agar. Warna koloni pada umumnya putih sampai kekuningan atau putih suram, tepi koloni bermacam-macam namun pada umumnya tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, bahkan ada yang cenderung kering berbubuk, koloni



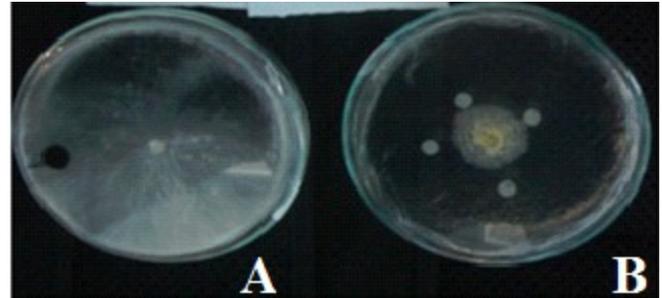
Berkal

xxxx, hlm x-x.

besar dan tidak mengkilat. Bentuk koloni dan ukurannya sangat bervariasi tergantung dari jenisnya (Rheinheimer, 1980).

Gambar 3 Beberapa Strain *Bacillus spp* yang telah dikembangkan.

Uji Daya Hambat *Bacillus sp* terhadap patogen *R.solani* secara In-vitro. Uji daya hambat secara in-vitro yaitu dengan melihat daya hambat *Bacillus spp* pada *Rhizoctonia solani* salah satu contoh perbandingan antara Kontrol dengan dengan perlakuan *Bacillus spp* dengan *Rhizoctonia solani*



Gambar 4. Perbandingan hasil uji antagonisme antara perlakuan kontrol (A) sudah memenuhi petridish dan perlakuan *Bacillus spp* (B) terdapat zona hambat pada umur 7 hari.

Tabel 1. Daya hambat *Bacillus spp* terhadap patogen *R. solani* pada media buatan

No	Perlakuan	Diameter (cm)	Daya hambat
1	BS1	0,00	100%
2	BS2	0,70	95%
3	BS3	4,00	72%
4	BS4	0,00	100%
5	BS5	3,10	78%
6	BS6	1,80	88%
7	BS7	1,90	87%
8	Kontrol	14,40	0%

Keterangan: BS = *Bacillus spp*

Hasil pengaplikasian bakteri antagonis *Bacillus spp* terhadap jamur *R.solani* didapatkan hasil pada perlakuan BS1 dan BS 4 memiliki tingkat daya hambat yang cukup tinggi yaitu sebesar 100%.

Tabel 2. Hasil perhitungan insidensi penyakit patogen *R. solani* pada tanaman kedelai.

Perlakuan	Perlakuan Hari ke -	
	18	28
	Insidensi Penyakit (%)	Insidensi Penyakit (%)
A0B0	7 a	40 a
A0B1	0 b	70 bc
A0B2	7 ab	40 bc
A0B3	7 b	40 bc
A0B4	0 b	13 bc

A0B5	0 b	33 bc
A0B6	0 b	60 bc
A0B7	7 a	67 bc
A1B0	20 a	53 a
A1B1	0 b	33 ab
A1B2	20 ab	87 bc
A1B3	0 b	33 bc
A1B4	27 b	100 a
A1B5	0 b	33 bc
A1B6	7 ab	33 bc
A1B7	0 b	0 c

Keterangan: A: *R. solani*; B: *Bacillus spp*

Pengamatan hari ke-18 (Tabel 2) nilai insidensi terbesar terdapat pada perlakuan RSBS4 (27%). Pengamatan insidensi penyakit hari ke-28 Nilai kematian tanaman kedelai terbanyak terdapat pada perlakuan RSBS 4 . Nilai insidensi tertinggi terdapat pada perlakuan RSBS4 (100%).

Tabel 3. Hasil Perhitungan intensitas serangan patogen *R. solani* pada tanaman kedelai.

Perlakuan	Intensitas Serangan (%)
A0B0	85 a
A0B1	27 bc
A0B2	56 a
A0B3	42 bc
A0B4	35 bc
A0B5	40 bc
A0B6	23 d
A0B7	58 bc
A1B0	80 a
A1B1	100 e
A1B2	40 bc
A1B3	38 cb
A1B4	100 e
A1B5	53 cd
A1B6	26 cd
A1B7	41 ab

Keterangan: BS: *Bacillus spp*; RS: *R. solani*

Tabel 3 menunjukkan hasil perhitungan intensitas serangan patogen *R. solani* pada tanaman kedelai. Intensitas tertinggi terdapat pada perlakuan pakai RSBS1 sebesar 100%, dan tanpa RSBS4 sebesar 100%

Tabel 4. Hasil perhitungan Laju infeksi *R. solani* pada tanaman Kedelai

Perlakuan	Hari ke -	
	18 (Unit/Hari)	28 (Unit/Hari)
A0B0	0 ns	0.120 ns

A0B1	0 ns	0.055 ns
A0B2	0 ns	0.120 ns
A0B3	0 ns	0.175 ns
A0B4	0 ns	0.026 ns
A0B5	0 ns	0.175 ns
A0B6	0 ns	0.120 ns
A0B7	0 ns	0.185 ns
A1B0	0 ns	0.120 ns
A1B1	0 ns	0.207 ns
A1B2	0 ns	0.204 ns
A1B3	0 ns	0.120 ns
A1B4	0 ns	0.250 ns
A1B5	0 ns	0.165 ns
A1B6	0 ns	0.145 ns
A1B7	0 ns	0.000 ns

Keterangan: BS: *Bacillus spp*; RS: *R. solani*

Perlakuan RSBS 4 laju infeksi mencapai 0,250 unit per 7 hari, artinya pada pengamatan antara minggu ke-3 dan ke-4 terjadi laju infeksi sebesar 250 per bagian tanaman. Pada pengamatan antara minggu ke-1 dan ke-2 belum terlihat laju infeksi yang cukup besar, perlakuan kombinasi RSBS 1 laju infeksi mencapai 0,207 unit per 7 hari ini juga terlihat pada pengamatan antara minggu ke 3 dan minggu ke 4 yang terjadi 207 unit per bagian tanaman.

PEMBAHASAN

Perlakuan pertama dengan uji in-vitro dengan melihat daya hambat atau pertumbuhan patogen jamur *R.solani* yang ditempatkan pada media PDA yang telah diinokulasi dengan bakteri antagonis *Bacillus spp* didapatkan adanya penghambatan pada pertumbuhan jamur *R.solani*. Pengamatan hari ke 2 pada perlakuan kontrol *R.solani* tumbuh dengan baik sedangkan pada perlakuan BS1 sampai BS7 pertumbuhan jamur mengalami penghambatan.

Tabel 1 pada pengamatan hari ke-6 semua strain *Bacillus spp* yang diberikan sudah mencapai diatas 70% ini didapatkan karena penghambatan yang di lakukan pada jamur *R.solani* berjalan efektif. Pertumbuhan mikroba penghasil antibiotik dan produksinya tergantung pada komposisi media, khususnya pada sumber karbon dan nitrogen serta kondisi fermentasi (Theobald et al., 2000). Nishijima et al. (2005) mengatakan bahwa spesies *Bacillus* menghasilkan sedikitnya 66 jenis antibiotik dan strain tertentu dari *Bacillus* merupakan agen biokontrol. Genus *Bacillus*, umumnya merupakan kooproduser senyawa antibiotik polipeptida (Feignier et al., 1996).

Jamur akan tumbuh baik pada kondisi yang memungkinkan dan cocok untuk pertumbuhannya, pada media yang cukup baik jamur akan berkembang dengan baik. Sehingga pada saat adanya penghambatan dari bakteri antagonis akan mempengaruhi pertumbuhan dari jamur itu sendiri dan lama kelamaan jamur itu akan mengalami kematian. Oleh karena itu dengan adanya perlakuan *Bacillus spp* pada jamur *R.solani* mengakibatkan terjadinya perubahan pada jamur dan yang terlihat dari hasil tabel pengamatan hari ke- 6 menunjukkan jamur *Bacillus spp* dengan strain no 1, 4 dan 7 memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan dari jamur *R.solani*. Fatima et al. (2008) menjelaskan bahwa rizobakteri memproduksi senyawa siderofor dan nitrogen sianida, enzim kitinase, protease, dan beberapa enzim lain yang beracun bagi cendawan patogen sehingga dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen.

Tahap kedua yaitu *in-vivo* yang dilakukan di greenhouse pertanian universitas jember dengan beberapa pengamatan, pengamatan insidensi penyakit, pengamatan intensitas serangan dan pengamatan laju infeksi penyakit tanaman kedelai.

Pengamatan insidensi penyakit dilakukan pada tanaman kedelai dengan melihat tanaman mati atau tidak tumbuh. Pengamatan insidensi penyakit dilakukan hingga 18 HST dengan selang pengamatan dua hari sekali. Indikator bibit mati yang terserang patogen adalah tanaman rebah dengan batang bagian bawah membusuk dan berwarna hitam rebah kecambah, busuk atau hawar daun, polong dan batang. Pada tanaman yang baru tumbuh terjadi busuk (hawar) di dekat akar, kemudian menyebabkan tanaman mati karena rebah. Pada daun, batang dan polong timbul hawar dengan arah serangan dari bawah ke atas. Bagian tanaman yang terserang berat akan kering. Pada kondisi yang sangat lembab timbul miselium yang menyebabkan daun-daun akan lengket satu sama lain menyerupai sarang laba-laba (*web blight*).

Pada hari ke-18 ditemukan beberapa gejala serangan *R.solani* pada tanah dan batang bawah kedelai. Serangan *R.solani* pada pengamatan hari ke-18 masih belum terlihat sangat besar dikarenakan masih dalam tahap pemecahan sklerotium, sklerotium ini bentuknya seperti bola bulat kecil yang dimana jika sklerotium ini pecah akan menyebarkan hifa yang akan memunculkan jaring-jaring kecil yang nantinya dikenal sebagai jamur *R.solani* ciri khas dari jamur ini yaitu saat kondisi lingkungan kurang memadai jamur ini akan membentuk sklerotium sehingga sangat sulit untuk dibasmi dikarenakan selain sklerotium ini kecil, juga dapat bertahan lama di dalam tanah.

Insidensi penyakit hari ke 18 menunjukkan adanya tanaman mati akibat serangan *R.solani* dan ada juga yang mati dikarenakan pertumbuhan dari bibit mengalami kegagalan, dapat dilihat pada perlakuan Tanpa RS (*R.solani*) ada beberapa tanaman pada beberapa ulangan yang mengalami kematian atau bibit belum tumbuh, sedangkan perlakuan A1B2 dan A1B4 mengalami kematian yang cukup besar, terlihat dari ulangan 1 A1B4 tanaman mati 4 hanya menyisakan 1 tanaman saja ini membuktikan serangan dari *R.solani* sudah mempengaruhi pertumbuhan tanaman, dan juga *Bacillus spp* strain 4 ini masih belum mampu mengatasi serangan dari *R.solani* ini.

Bisa dilihat pada persentase insidensi serangan *R.solani* pada perlakuan A0B4 sebesar 27% dan pada perlakuan A0B2 sebesar 20%, ini menunjukkan gejala serangan mulai terjadi sehingga pengamatan mulai dilakukan secara intensif.

Pengamatan hari ke-28 pada perlakuan pakai A1B4 terlihat insidensi penyakit mencapai 100%, sedangkan pada tahap uji *in-vitro* perlakuan bakteri *Bacillus spp* strain 4 ini mencapai 100% yang artinya pada perlakuan *in-vitro* bakteri *Bacillus spp* mampu menghambat pertumbuhan jamur *R.solani* namun pada keadaan di lapang atau pada pengujian *in-vivo* berbeda ini diduga bakteri *Bacillus spp* strain 1 dan 4 tidak memiliki ketahanan dalam adaptasi lingkungan yang baik sehingga pada saat *Bacillus spp* strain 1 dan 4 di perlakukan dengan jamur *R.solani*, bakteri tidak dapat berkembang baik dan tidak mampu untuk tumbuh dengan baik. Perlakuan pakai RSB4 terlihat tanaman mengalami kematian sedangkan pada *Bacillus spp* strain 4 tidak mengalami kematian yang signifikan ini menunjukkan bahwa adanya perbedaan disetiap strain yang memiliki pengaruh pada tanaman, selain itu *Bacillus spp* dapat memberikan sistem pertahanan (bioprotektan), karena bakteri ini dapat mengeluarkan senyawa antibiosis yang mampu memberikan sinyal terhadap tanaman yang terserang agar melakukan pertahanan diri.

Perlakuan RSB2 yang tadinya sudah terserang *R.solani* mengalami peningkatan pada hari ke - 18 sebesar 20% kemudian menjadi 87%. Perlakuan RSB6 dimana strain 6 ini sangat mampu mengendalikan jamur *R.solani* terlihat dari tanaman yang baik dan memiliki pertumbuhan yang baik dari pada strain-strain lainnya, RSB6 selain mampu mengendalikan jamur *R.solani* strain diduga mampu meningkatkan pertumbuhan dan kekebalan tanaman terhadap serangan penyakit ini terbukti dengan tidak adanya gejala tanaman yang terlihat pada tanah, batang maupun daun pada tanaman kedelai tersebut.



Gambar 5 Gejala serangan *R.solani* pada batang bawah tanaman kedelai.

Gambar 5, yang menunjukkan serangan dari *R.solani* pada batang bawah dan tanah di dekat batang terdapat warna putih seperti hifa dan jika di goyang akan terlihat seperti serbuk yang berjatuhan. Beberapa strain *Bacillus spp* mampu meningkatkan kondisi tanaman sehingga tahan terhadap serangan dari jamur *R.solani* hal tersebut dikarenakan beberapa bakteri ini termasuk bakteri rizosfer yang diisolasi dari sekitar perakaran tanaman yang juga memacu pertumbuhan tanaman (Khaeruni *et al.*, 2010). Ramamoorthy *et al.* (2002); Fatima *et al.* (2009), dan Mia *et al.* (2010) juga melaporkan beberapa rizobakteri memiliki kemampuan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan sekaligus sebagai agens biokontrol.

Pengamatan intensitas serangan dilakukan pada hari ke-28 untuk melihat tingkat serangan terbesar pada tanaman kedelai. Pengamatan ini menggunakan sistem scoring yang nantinya akan diolah menjadi data yang digunakan acuan untuk melihat tingkat serangan terbesar dari masing-masing strain yang diberikan

Perlakuan A1B1 atau *R.solani* dengan *Bacillus spp* strain 1 menunjukkan adanya persentase yang cukup tinggi yaitu 100% ini terlihat dengan adanya tanaman yang mati dan sebagian tanaman roboh atau bisa dinamakan *Dumping-off* dengan ciri-ciri terdapat seperti tepung warna putih dibagian pangkal batang bila di jatuhkan terdapat spora yang berterbangan dan akan menempel pada tanah, dan juga terlihat seperti benang-benang tipis di sekitar batang bawah dan di permukaan tanah.

Perlakuan A0B1 dan A0B4 tanpa diinokulasi *R.solani* dapat memberikan pengaruh yang baik sehingga dapat membantu tanaman kedelai dalam proses pertumbuhannya namun berbeda halnya dengan pemberian patogen jamur *R.solani*, A0B1 dan A0B4 yang diinokulasi jamur *R.solani* memperlihatkan bahwa jamur *R.solani* mampu mendominasi media dengan menghambat pertumbuhan dari bakteri dan mengakibatkan bakteri tidak berkembang sehingga tidak memberikan manfaat yang baik bagi tanaman, ini diduga *Bacillus spp* strain 1 dan *Bacillus spp* strain 4 kurang mampu dalam mengendalikan jamur *R.solani* namun mampu membantu tanaman dalam tumbuh dengan baik selain itu ada faktor lain yaitu dari biji tanaman kedelai itu sendiri mengingat bahwa biji tanaman kedelai yang digunakan yaitu biji varietas lokal Wilis dengan pengambilan biji tersebut langsung pada pertanaman kedelai yang telah panen sehingga ada kemungkinan *R.solani* terbawa oleh biji kedelai tersebut.

Bustaman (2006), mengemukakan bahwa perbaikan pertumbuhan tanaman dapat disebabkan oleh kemampuan mikroorganisme untuk menggunakan nutrisi dari bahan organik dan tanah sehingga lebih tersedia dan mudah diambil oleh tanaman. Hal ini juga di tunjukkan pada perlakuan *Bacillus spp* strain 6 tanpa pemberian *R.solani* yang mampu memberikan manfaat pada tanaman dan pada perlakuan yang di berikan *R.solani* atau RSB6 tanaman ini dapat bertahan serta mampu

mendominasi media yang digunakan sehingga tidak terjadi serangan yang cukup parah dari jamur *R.solani* yang diberikan.

Jamur yang diinokulasi ke dalam tanah tidak dapat tumbuh dengan baik dikarenakan adanya penghambatan dengan memutuskan hifa yang dilakukan oleh bakteri *Bacillus spp* strain 6 ini, hifa-hifa yang telah putus membuat jamur *R.solani* tidak dapat berkembang dengan baik dan mengakibatkan jamur ini mati sehingga dengan mendominasi media membuat tanaman tumbuh lebih baik dan tahan terhadap serangan jamur *R.solani*, selain itu kemampuan dari *Bacillus spp* strain 6 ini menjadikan tanaman tumbuh lebih baik dikarenakan *Bacillus spp* ini memiliki kemampuan sebagai bioprotektan.

Pengamatan Laju infeksi dihitung pada hari ke 18 sampai hari ke 28 dikarenakan pada hari ke 18 dan hari ke 28 tanaman mulai mengalami gangguan atau terserang jamur *R.solani* pada hari ke 28 tanaman sudah mulai banyak yang mengalami kematian terutama pada perlakuan kombinasi antara bakteri antagonis *Bacillus spp* dengan patogen jamur *R.solani*.

Perlakuan A1B4 laju infeksi mencapai 0,250 unit per hari, artinya pada pengamatan antara minggu ke-3 dan ke-4 terjadi laju infeksi sebesar 250 per bagian tanaman. Pada pengamatan antara minggu ke-1 dan ke-2 belum terlihat laju infeksi yang cukup besar, perlakuan kombinasi A1B1 laju infeksi mencapai 0,207 unit per hari ini juga terlihat pada pengamatan antara minggu ke 3 dan minggu ke 4 yang terjadi 207 unit per hari.

Munculnya gejala terjadi setelah hari ke-18 sehingga diamati sampai hari ke-28. Serangan dari jamur *R.solani* ini mulai terlihat dan menyerang pada pertanaman kedelai, pada hari ke-0 sampai hari ke-18 jamur ini masih belum tumbuh dan setelah hari ke-18 mulai muncul gejala, akan tetapi terdapat beberapa tanaman yang tidak ada serangan dari jamur *R.solani* hingga hari ke-28, hal ini terlihat pada perlakuan kombinasi antara *R.solani* dengan *Bacillus spp.* strain 6, dengan grafik ini menunjukkan adanya laju serangan namun laju serangan ini lambat di karenakan *R.solani* merupakan jamur tanah yang merupakan tipe pola perkembangan monosiklik, yang di maksud pola perkembangan monosiklik cenderung disebabkan oleh patogen berupa jamur, bakteri, virus, dan nematoda yang menyebabkan penyakit bergejala sistemik. Inokulum awal patogen ini menyerang bagian rizosfer dan rizoplan tanaman semusim maupun tahunan. Perkembangan penyakit monosiklik juga dapat membahayakan populasi tanaman budidaya jika mampu terpencah secara luas melalui cara pemencaran aktif maupun pasif.

DAFTAR PUSTAKA

- Bustaman H. 2006. Seleksi mikroba rizobakteri antagonis terhadap bakteri *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit bakteri pada tanaman jahe di lahan tertindas. Tidak diterbitkan. Skripsi. Bengkulu (ID): Universitas Bengkulu.
- Fatima Z, M. Saleemin, M. Zia, T. Sultan, M. Asham, RU. Rehman, MF. Chaudhary. 2009. Antifungal activity of plant growth-promoting rhizobacteria isolates against *Rhizoctonia solani* in wheat. *Afr J Biotech.* 8(2):219-225.
- Feignier, C., F. Besson, and G. Michel. 1996. *Characterization of iturin synthetase in the wild-type Bacillus subtilis strain producing iturin and an iturin deficient mutant.* FEMS Microbiology Letters. 136: 117-122.
- Gupta V.P., H. Bochow, S, and Dolej. I Fischer. 1999. *Plant Growth-Promoting Bacillus subtilis Strain As Potential Inducer Of Systemic Resistance In Tomato Against Fusarium wilt.* Institute For Phytopathologi and Plant Protection. Faculty Of Agriculture and Horticultural Sciencis, Humboldt- University Berlin, Dorfstrasse 90-13051. Berlin. Germany.
- Keet, C., Wirthner, P.H., Oberhansil, T. Haplustepts, Voisad C., Burger Hass, D. And Defago, G. 1990. *Pseudomonas As Antagonists of Plant Pathogens In The Rhizosphere, Role of In antibiotic 2,4 – Diacyl Phloroglucinol In the Suppressuion Op Bkck Rot Of Tabacco Symbiosis g:* 237 – 241.
- Mia MAB, ZH. Shamsuddin, M. Mahmood. 2010. Use of plant growth promoting bacteria in banana: a new insight for sustainable banana production. *Int J Agric Biol.* 12:459-467. doi: 09-279/SBC/2010/12-3-459-467. Khaeruni A, GAK. Sutariati, S. Wahyuni. 2010. Karakterisasi dan uji aktivitas bakteri rizosfer lahan ultisol sebagai pemacu pertumbuhan dan agensia hayati cendawan patogen tular tanah secara in vitro. *J. Hama Penyakit Tumbuhan Tropika.* 10(2):123-130.
- Nishijima, T., K. Toyota, and M. Mochizuki. 2005. Predominant culturable *Bacillus* species in Japanese arable soils and their potential as biocontrol agents. *Microbes and Environments* 20 (1): 61-68.
- Ramamoorthy V, T. Raguchander, R. Samiyappan. 2002. *Induction of defense-related proteins in tomato roots treated with Pseudomonas fluorescens dan Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici.* Plant Soil. 239:55-68.
- Rheinheimer, G. 1980. *Aquatic Microbiology.* German. Wiley & Sons, Incorporated, John.
- Sumardi, L., dan Dewi. 2009. *Isolasi Bacillus Penghasil Protease Dari Saluran Pencernaan Ayam Kampung.* Seminar Hasil Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat. Unila.
- Tarntip, R dan S, Thungkao. 2011. *Isolation of proteolytic, lipolytic, and bioemulsifying bacteria for improvement of the aerobic treatment of poultry processing wastewater.* Afr. J. Microbiol. Rsc 5 (2) : 30
- Theobald, U., J. Schimana, and H. Fielder. 2000. *Microbial growth and production kinetics of Streptomyces antibioticus Tu6040.* Antonie van Leeuwenhoek. 78: 307-313.
- Waluyo Lud. 2008. *Teknik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi.* Malang: UMM Press.
- Wei G, Klopper JW, Tuzun S. 1990. *Induction of systemic resistance of cucumber to Colletotrichum orbiculare by selected strain of plant growth promoting rhizo-bacteria.* Phytopathology. 81(12):1508-1512. doi: 10.1094/Phyto-81-1508.