



**EKSPLORASI *Bacillus* spp. PADA BEBERAPA RHIZOSFER GULMA
DAN POTENSINYA SEBAGAI AGENS PENGENDALI HAYATI
PATOGEN TANAMAN SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**OLEH:
RANA VIRGA TESHA SYOFIANA
NIM. 131510501171**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma
dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati
Patogen Tanaman Secara *In vitro***

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Rana Virga Tesha Syofiana
NIM. 131510501171**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah Subhanahu wa ta'ala, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tua tercinta, Umi Esin Theresiana dan Abi Syofian Muchtar Riontika yang telah banyak memberikan pengorbanan dan tak hentinya mengirimkan doa dan dukungan yang luar biasa untuk penulis dalam menyelesaikan jenjang pendidikan ini.
2. Kakakku Rizki Sophia Fitrah Theresiana yang selalu memberikan saya semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
3. Seluruh keluarga besar Suhandi dan M. Sayuti yang telah memberikan saya dukungan baik moril maupun materil.
4. Semua sahabat dan teman yang telah menemani saya selama perkuliahan dan penelitian.

MOTTO

“Barang siapa yang melapangkan seorang muslim dari salah satu kesusahan dunia, maka allah akan melapangkannya dari salah satu kesusahan pada hari kiamat. Barang siapa yang memudahkan orang kesulitan maka allah akan memudahkannya didunia dan di akhirat”
(HR. Muslim)

“Karena sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”
(QS. Al-Insyirah : 5-6)

“Sebaik baik manusia adalah yang bermanfaat bagi orang lain”
(HR Ahmad dan Thabrani)

“Ilmu bisa melihat sesuatu yang tidak dapat dijangkau oleh mata”
(Mr. Suhara)

“Orang yang sukses hanya memiliki satu alasan, yaitu tidak punya alasan”
(Mrs. Tatin, Teacher in Madrasah Aliyah Negeri Purwakarta)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama: Rana Virga Tesha Syofiana

NIM : 131510501171

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul **“Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Patogen Tanaman Secara *In vitro*”** adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab penuh atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapatkan sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 21 Desember 2018
Yang menyatakan,

Rana Virga Tesha Syofiana
NIM. 131510501171

SKRIPSI

**Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma
dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati
Patogen Tanaman Secara *In vitro***

Oleh :

Rana Virga Tesha Syofiana
NIM. 131510501280

Pembimbing

Dosen Pembimbing Skripsi : Dr. Ir. Rachmi Masnilah, M.Si.
NIP : 196301021988022001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Patogen Tanaman Secara *In vitro*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Jum’at

Tanggal : 21 Desember 2018

Tempat : Ruang Sidang Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Dr. Ir. Rachmi Masnilah, M. Si
NIP. 196301021988022001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Dr. Suhartiningih Dwi N. S.P., M.Sc.
NIP. 197303252003122002

Ir. Joko Sudibya, M.Si.
NIP. 196007011987021001

Mengesahkan

Dekan,

Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D
NIP. 19600506 198702 1 001

RINGKASAN

Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Patogen Tanaman Secara *In vitro*; Rana Virga Tesha Syofiana; 131510501171; 2018, Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

Salah satu *rhizobacteria* yang telah banyak diteliti sebagai agen hayati adalah *Bacillus* spp. Kemampuannya dalam beradaptasi terhadap lingkungan, menjadikan bakteri ini banyak ditemukan di alam terutama pada daerah rhizosfer. Keberadaan *Bacillus* yang berada di rhizosfer dan aktif di permukaan tanah dikarenakan kemampuannya dalam memanfaatkan bahan organik yang stabil di samping memanfaatkan eksudat akar, juga produk dari metabolisme bersifat toksik yang berada di daerah rhizosfer.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui keberadaan *Bacillus* spp. pada beberapa rhizosfer gulma serta potensinya dalam menekan patogen tanaman secara *in vitro*. Penelitian ini dilakukan melalui dua tahap yaitu, pengambilan sampel tanah yang dilakukan di tiga lahan berbeda di daerah Kalisat, Jember dilanjutkan dengan proses isolasi, seleksi, dan identifikasi yang dilakukan di Laboratorium Penyakit Jurusan Hama Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Jember. Proses identifikasi mengacu pada tabel W. Chun and K. Vidaver dalam buku Schaad *et al.*, (2001). Data dianalisis secara deskriptif mengacu pada sumber-sumber yang ada.

Hasil penelitian menunjukkan jumlah populasi terbanyak berasal dari rhizosfer *Cyperus rotundus* dengan total populasi bakteri sebanyak $24,6 \times 10^5$ CFU/gr. Terdapat 17 isolat yang berhasil diidentifikasi sebagai genus *Bacillus* spp. yang mampu menghambat pertumbuhan *Fusarium* sp dengan presentasi hambatan terbesar mencapai 73% sementara 14 isolat berhasil menghambat pertumbuhan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* secara *in vitro* dengan besar hambatan mencapai 14 mm. Hasil identifikasi secara fisiologi dan biokimia terhadap lima isolat unggul ditemukan 4 spesies yaitu *B. licheformis*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, dan *B. alvei*.

SUMMARY

Eksplorasi *Bacillus* spp. In Several Weeds Rhizosphere and Their Potential as Biological Control Agent of Plant Pathogen by *In vitro*; Rana Virga Tesha Syofiana; 131510501171; 2018, Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

One of the rhizobacteria that has been widely investigated as biological agents is the genus *Bacillus*. Its ability to adapt to the environment is less favorable, making this bacterium widely found in nature, especially in the rhizosphere. The presence of *Bacillus* in the rhizosphere and active on the ground due to its ability to utilize stable organic matter in addition to utilizing root exudates, as well as products of toxic metabolism in the rhizosphere.

This study aims to determine the presence of *Bacillus* spp. in some rhizosphere weeds and their potential in suppressing plant pathogens. *in vitro*. This research was conducted through two stages, namely, taking soil samples carried out in three different fields in the Kalisat area, Jember with a sampling method by random purposive sampling, followed by an isolation, selection, and identification process carried out at the Disease Laboratory of the Faculty of Plant Disease Pests Agriculture University of Jember. The identification process refers to the table W. Chun and K. Vidaver in the book Schaad *et al.*, (2001). Data analyzed descriptively referring to existing sources.

The results showed that the largest population originated from the rhizosphere *Cyperus rotundus* reached a total bacterial population of $24,6 \times 10^5$ CFU / gr. There were 17 isolates that were identified as *Bacillus* spp. which was able to inhibit the growth of *Fusarium* sp. with the largest obstacle presentation reaching 73% while 14 isolates succeeded in inhibiting the growth of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae in vitro* with a resistance of up to 14 mm. The results of physiological and biochemical identification of five superior isolates found 4 species, namely *B. licheiformis*, *B. subtilis*, *B. coagulans*, and *B. alvei*

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Eksplorasi *Bacillus* spp. Pada Beberapa Rhizosfer Gulma dan Potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati Patogen Tanaman Secara *In vitro*”** dengan baik.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini dapat diselesaikan karena keterlibatan banyak pihak yang membantu dan memberi dukungan dengan sepenuhnya. Dengan penuh rasa hormat dan kerendahan hati penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Allah *subhanahu wa ta'ala* atas segala pertolongan dan petunjuk yang diberikan sehingga penulis mampu menyelesaikan semua ini.
2. Nabi Muhammad *shallallahu 'alaihi wa sallam* yang menjadi guru terhebat dalam hidup.
3. Kedua orang tua Umi Esin dan Abi Syofian yang telah banyak memberikan pengorbanan dan semangat buat penulis.
4. Kakakku Rizki Sophia Fitrah Teresiana yang selalu memberi dukungan kepada penulis.
5. Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan yang telah memberikan Beasiswa Bidik Misi melalui Ristekdikti.
6. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
7. Ir. Hari Purnomo, MSi., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
8. Dr. Ir. Rachmi Masnilah, M. Si. selaku Dosen Pembimbing Skripsi (DPS) yang telah dengan sabar memberi bimbingan dan motivasi kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi.
9. Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti S.P., M.Sc. selaku dosen penguji I dan Ir. Joko Sudibya, M. Si. selaku dosen penguji II yang telah bersedia memberikan kritik dan saran untuk menyempurnakan penyusunan skripsi ini.

10. Segenap Dosen Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang telah mendidik dengan sabar selama penulis menjadi Mahasiswa.
11. Sahabat penulis Jihan Elsa, Novian Hadinata, dan Indah Nurul Safitri.
12. Mas Wahyu Ernanda selaku teknisi di Laboratorium Penyakit yang telah banyak membantu penulis selama penelitian.
13. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Mba Dina, Mba Mega, Mas Huda, Dilla, Novi, Dewi, Fitri, Fingki, Laila, Eka, Anisatul, Dinatul, Andra, Ival, Rela, Tika, dan lain-lain yang telah banyak memberikan bantuan, doa dan semangat kepada penulis.
14. Ainur, Faruq, Ipul, keluarga besar Fourtek dan Agroteknologi 2013, serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan banyak dukungan.

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis juga menyadari tulisan ini tidak sempurna sehingga kritik dan saran diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

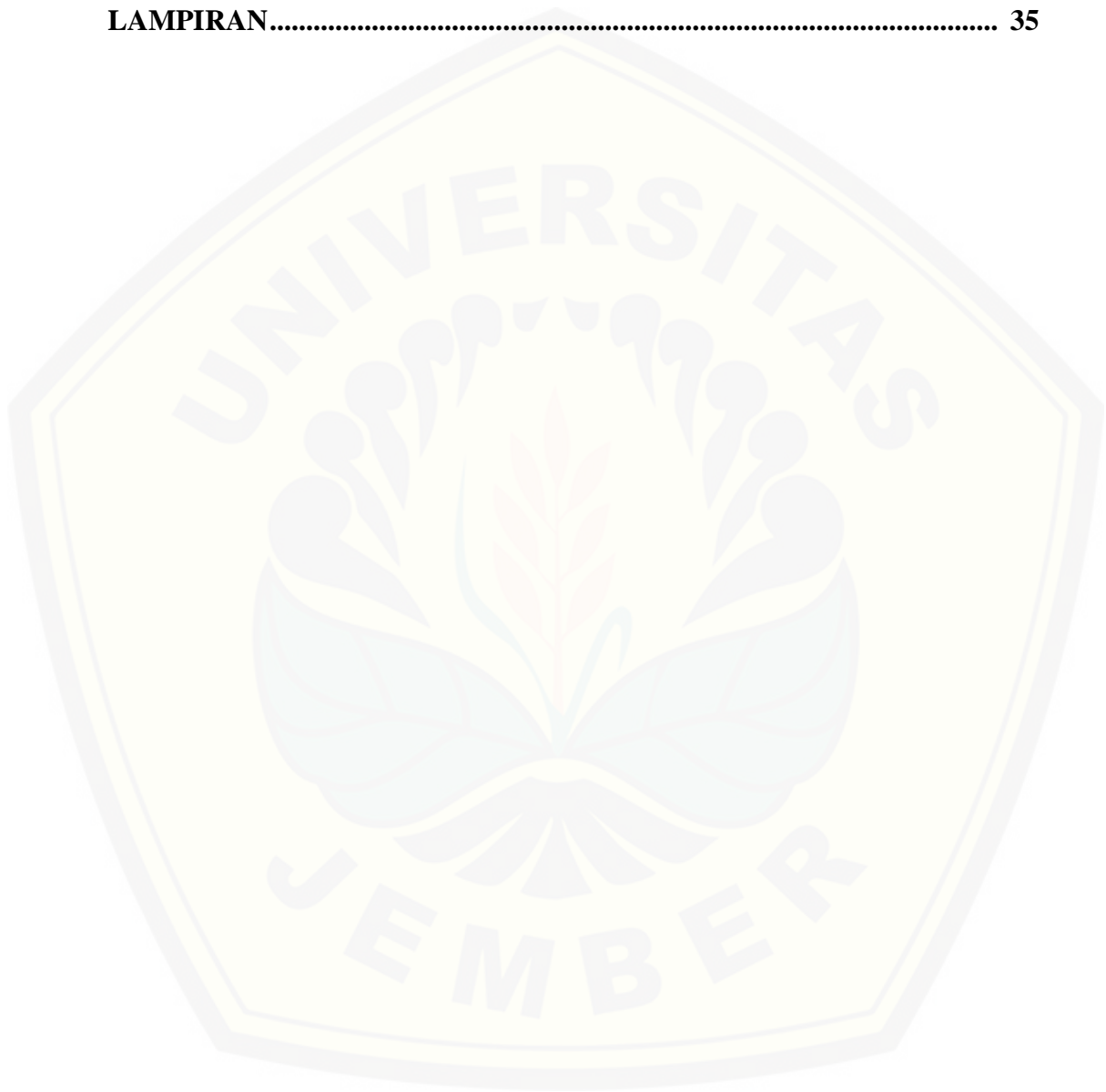
Jember, 21 Desember 2018

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBING	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	viii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Rhizosfer dan Mikrobia Tanah	4
2.2 Karakteristik dan Bioekologi <i>Bacillus</i>	5
2.3 Potensi <i>Bacillus</i> Sebagai Agens Hayati.....	6
2.4 Patogen Tanaman.....	7
2.4.1 <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	8
2.4.2 <i>Fusarium</i> sp.	9
2.6 Hipotesis	10
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
3.2 Alat dan Bahan	11
3.3 Persiapan Penelitian.....	11

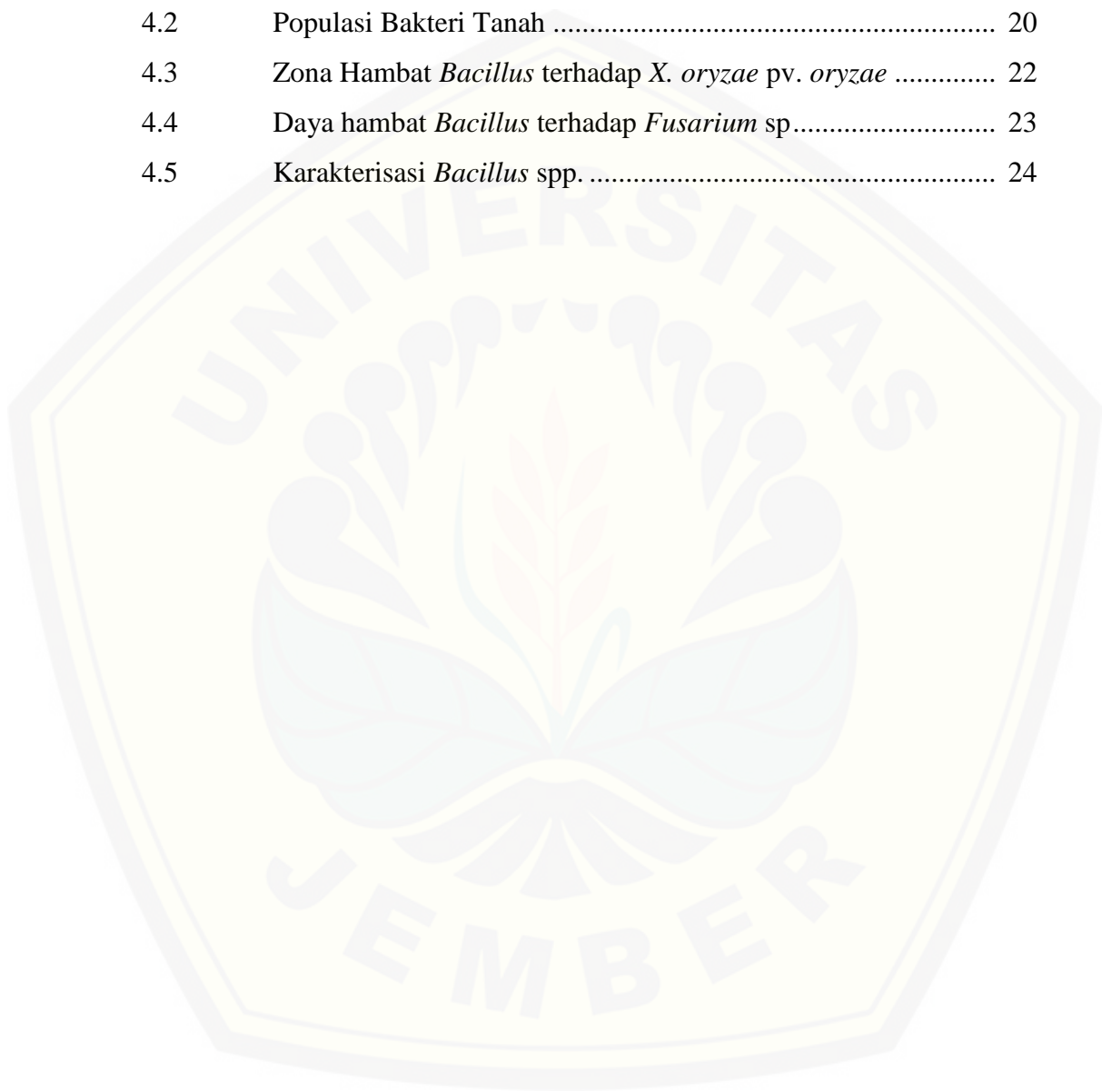
3.3.1	Survey Penentuan Lokasi	11
3.3.2	Peremajaan Isolat Patogen	12
3.4	Pelaksanaan Penelitian.....	12
3.4.1	Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri Asal Rhizosfer Gulma	12
3.4.2	Seleksi Bakteri Calon Agens Hayati.....	12
a.	Uji Gram	13
b.	Perhitungan Populasi Bakteri	13
c.	Uji Hipersensitif.....	13
3.4.3	Uji Antagonisme <i>Bacillus</i> spp. Terhadap Patogen Tanaman Secara <i>In vitro</i>	13
3.3.4	Karakterisasi <i>Bacillus</i> Secara Fisiologi dan Biokimia	15
a.	Uji Katalase	15
b.	Uji Hidrolisa Pati	15
c.	Pertumbuhan Anaerobik Pada Media NB.....	15
d.	Pertumbuhan Suhu 45°C.....	16
e.	Pertumbuhan pH 5,7	16
f.	Pertumbuhan NaCl 7%	16
g.	Produksi Asam.....	16
3.3.3	Variabel Pengamatan	16
3.3.5	Analisis Data.....	17
BAB 4.	HASIL DAN PEMBAHASAN.....	18
4.1	Hasil.....	18
4.1.1	Morfologi dan Karakteristik Isolat Patogen	18
a.	<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	18
b.	<i>Fusarium</i> sp.....	18
4.1.2	Pengambilan Sampel di Lapang	19
4.1.3	Isolasi dan Seleksi Bakteri Asal Rhizosfer Gulma	19
4.1.4	Daya Hambat <i>Bacillus</i> spp. Secara <i>In vitro</i>	21
4.1.5	Karakterisasi <i>Bacillus</i> Secara Fisiologi dan Biokimia	23
4.2	Pembahasan	24

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	29
5.1 Kesimpulan.....	29
5.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	35



DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
4.1	Inventarisasi Gulma di Lapang.....	19
4.2	Populasi Bakteri Tanah	20
4.3	Zona Hambat <i>Bacillus</i> terhadap <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	22
4.4	Daya hambat <i>Bacillus</i> terhadap <i>Fusarium</i> sp.....	23
4.5	Karakterisasi <i>Bacillus</i> spp.	24

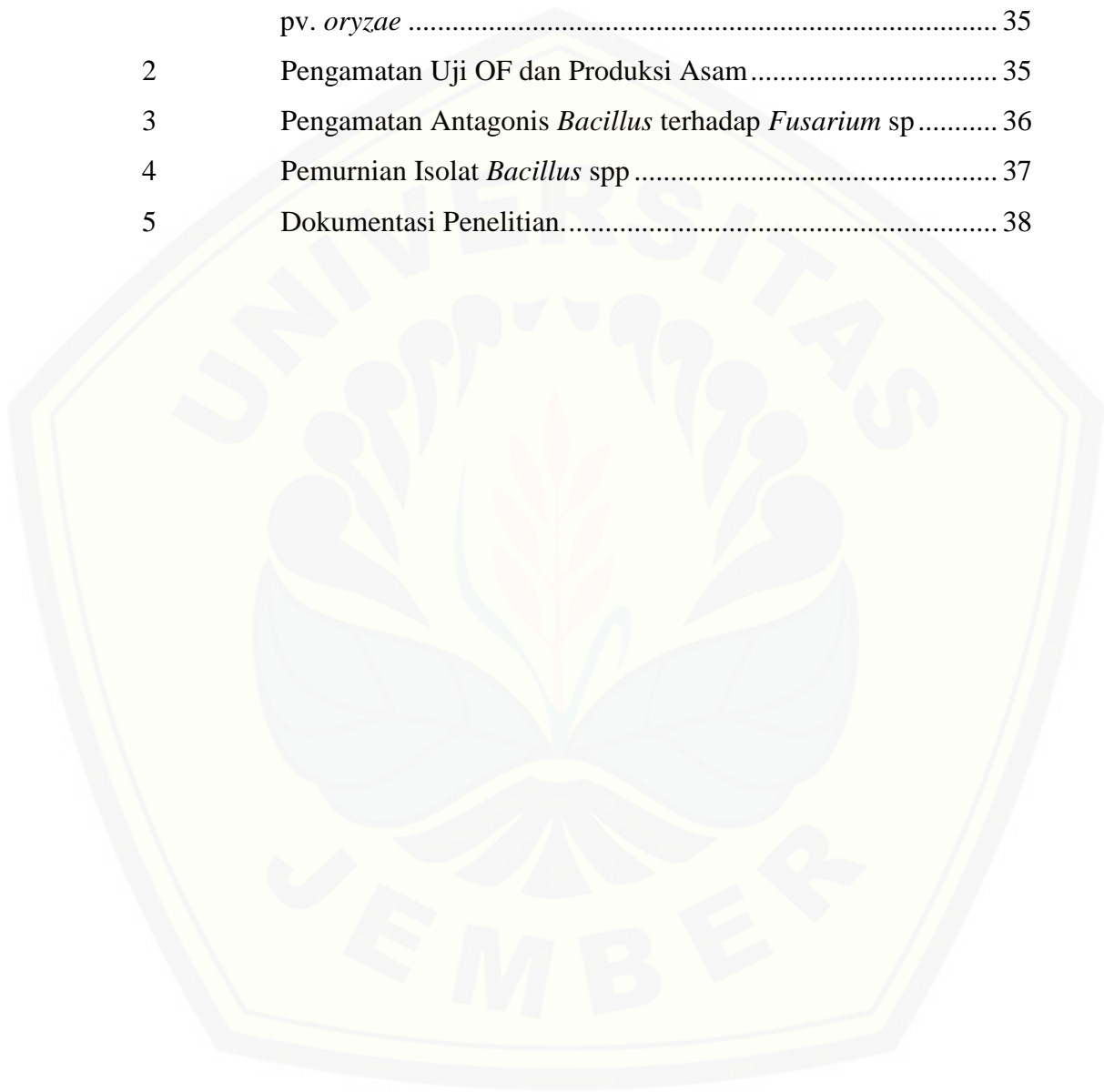


DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
2.1	Morfologi Patogen <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	8
2.2	Morfologi <i>Fusarium</i> sp	9
3.1	Skema Penempatan Bakteri Antagonis dengan Cendawan Patogen	13
4.1	Morfologi dan Identifikasi <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	18
4.2	Morfologi <i>Fusarium</i> sp. Hasil Peremajaan	19
4.3	Morfologi Koloni Bakteri Hasil Eksplorasi	20
4.4	Pengujian Gram dan Hipersensitif	21
4.5	Zona Bening <i>Bacillus</i> spp. Terhadap <i>X. oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> dan Mekanisme Hambatan	21
4.6	Zona Hambat <i>Bacillus</i> spp. Terhadap <i>Fusarium</i> sp	22
4.7	Uji Identifikasi <i>Bacillus</i> Secara Fisiologi dan Biokimia	24

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Pengamatan antagonis <i>Bacillus</i> terhadap <i>X. oryzae</i> <i>pv. oryzae</i>	35
2	Pengamatan Uji OF dan Produksi Asam.....	35
3	Pengamatan Antagonis <i>Bacillus</i> terhadap <i>Fusarium</i> sp.....	36
4	Pemurnian Isolat <i>Bacillus</i> spp	37
5	Dokumentasi Penelitian.....	38



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Patogen merupakan mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Patogen memperoleh nutrisi, air, dan segala kebutuhan hidup dari inangnya. Keberadaan patogen pada suatu jaringan tanaman dapat menyebabkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman menjadi terganggu secara fisiologi dikarenakan adanya persaingan nutrisi. Lebih lanjut, kehadiran patogen dapat merusak kualitas maupun kuantitas tanaman sehingga dapat menurunkan nilai jual dari produk pertanian (Pscheidt, 2011). Beberapa patogen tanaman yang banyak ditemukan pada lahan pertanian serta menyebabkan kerugian yang cukup tinggi diantaranya adalah *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan *Fusarium* (Tjahjadi, 1989; Hillocks dan Waller, 1997).

Salah satu upaya untuk menekan perkembangan patogen tanaman adalah melalui teknik pengendalian. Pengendalian yang saat ini telah banyak dikembangkan dan digunakan adalah pengendalian hayati yang berorientasi terhadap penggunaan agen hayati. Pengendalian ini dirasa aman, efektif, serta tidak menimbulkan dampak negatif bagi lingkungan dan organisme lain. Aplikasi agen hayati terhadap patogen tanaman diharapkan mampu mempersempit penyebaran dari patogen.

Menurut A. Umul (2012), terdapat banyak mikroba rhizosfer yang mampu menunjang pertumbuhan tanaman. Beberapa diantaranya bersifat antagonis bagi patogen tanaman. Melalui mekanisme isolasi dan seleksi terhadap mikrobia dalam tanah diharapkan mampu mendukung pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap patogen. Salah satu genus bakteri yang dilaporkan melimpah jumlahnya di daerah rhizosfer adalah *Bacillus* spp.

Bacillus merupakan salah satu genus rhizobacteria yang telah banyak diteliti dan dikembangkan. Kemampuannya dalam beradaptasi terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan, menjadikan bakteri ini banyak ditemukan di alam terutama pada daerah rhizosfer. Menurut Putra dan Giyanto (2014), *Bacillus* spp. dapat ditemukan di tanah, air, udara, dan residu tanaman

yang telah membusuk. Keberadaan *Bacillus* yang berada di tanah dan aktif di permukaan tanah dikarenakan kemampuannya dalam memanfaatkan bahan organik yang stabil di samping memanfaatkan eksudat akar, juga produk dari metabolisme bersifat toksik yang berada di daerah rhizosfer (Harwood and Archibald, 1990).

W. Chun and A.K. Vidaver dalam Schaad *et al.*, (2001) melaporkan, bahwa *Bacillus* sp. adalah bakteri tahan panas yang banyak ditemukan di daerah rhizosfer dan telah banyak diketahui mampu menghambat pertumbuhan patogen tanaman. Penelitian Prihartingsih dkk., (2015) berhasil mengisolasi *Bacillus subtilis* B315 dari rhizosfer kentang dan kemampuannya dalam menekan patogen *Ralstonia solanacearum*. Hasil eksplorasi dari rhizosfer kelapa sawit menemukan potensi *Bacillus* dalam menekan *G. boinense* (Puspita dkk., 2013). Selain itu, kelimpahan genus *Bacillus* spp. juga ditemukan pada rhizosfer kelompok gulma *Elesunie indica* (Estuningsih dkk., 2012), *Mimosa pudica* (Arwiyanto, 1997), sementara pada penelitian Widhikinasih (2014), berhasil menemukan koloni bakteri yang memiliki kemiripan dengan kelompok *Bacillus* pada gulma wewehan. Penelitian Ambarwati dkk., (2012) terhadap hasil eksplorasi dari perakaran gulma *Cyperus rotundus* hanya sebatas ditemukannya bakteri penghasil antibiotik tanpa diketahui jenisnya lebih lanjut.

Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, perlu adanya kajian lebih lanjut mengenai keberadaan *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma, serta potensinya dalam menekan perkembangan patogen tanaman. Kelompok *Bacillus* yang memiliki kemampuan unggul kemudian dikarakterisasi secara fisiologi mengacu pada tabel W. Chun and K. Vidaver dalam Schaad *et al.*, (2001).

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimanakah keberadaan *Bacillus* spp. pada rhizosfer gulma ?
2. Bagaimanakah potensi *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma sebagai agen pengendali hayati patogen tanaman secara *in vitro* ?
3. Bagaimanakah karakteristik *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma secara fisiologi dan biokimia ?

1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk:

1. Mengetahui keberadaan *Bacillus* spp. pada rhizosfer gulma.
2. Mengetahui potensi *Bacillus* spp. sebagai agen hayati dalam menekan perkembangan patogen tanaman: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan *Fusarium* sp. secara *in vitro*.
3. Mengetahui karakteristik *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma secara fisiologi dan biokimia.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai keberadaan *Bacillus* spp. pada rhizosfer gulma
2. Memberikan informasi mengenai potensi *Bacillus* spp. sebagai agen pengendali hayati patogen tanaman.
3. Memberikan informasi mengenai karakteristik *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Rhizosfer dan Mikrobia Tanah

Rhizosfer adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar. Rhizosfer merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroba oleh akar tanaman yang menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menstimulir pertumbuhan mikroba (Sumarno, 2010). Menurut A. Umul (2012), terdapat banyak mikroba rhizosfer yang mampu menunjang pertumbuhan tanaman. Beberapa diantaranya bersifat antagonis bagi patogen tanaman. Dengan mengisolasi dan melakukan seleksi terhadap mikrobia dari berbagai rhizosfer tanaman diharapkan mampu mendukung pertumbuhan dan ketahanan tanaman terhadap lingkungan.

Aktivitas mikroorganisme dalam tanah banyak dipengaruhi oleh eksudat akar. Kandungan eksudat akar tersebut merupakan salah satu faktor pertumbuhan bagi mikroorganisme (Erfin dkk., 2016). Selama proses fotosintesis, tanaman menghasilkan senyawa-senyawa yang penting untuk pertumbuhannya. Selain untuk pertumbuhan, tanaman juga menghasilkan metabolit sekunder yang dilepaskan ke daerah perakaran. Hasil metabolit sekunder yang dilepaskan menjadikan sumber makanan bagi mikroba tanah. Beberapa mikroorganisme tanah berperan dalam siklus hara, penunjang pertumbuhan tanaman, serta sebagai pengendali hayati terhadap patogen akar (Widyati, 2013).

Beberapa penelitian mengungkapkan terdapat potensi mikroba tanah yang berasal dari rhizosfer gulma. Hasil penelitian Ambarwati dkk.,(2012) berhasil menemukan bakteri penghasil antibiotik asal rizosfer gulma teki (*Cyperus rotundus*). Widhikinasih dkk (2014)., mengungkapkan terdapat bakteri yang memiliki ciri-ciri serupa kelompok *Bacillus* pada gulma wewehan (*Monochoria vaginalis*). Pada tahun yang sama Estuningsih dkk.,(2012) menemukan populasi *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Flavobacterium*, *Mycobacterium* dan *Acinobacter* pada perakaran rumput belulang (*Eleusine indica*). Mukamto dkk.,(2000) berhasil mengisolasi *Bacillus* spp. yang berasal dari rhizosfer tanaman *Mimosa diplotrica*.

2.2 Karakteristik dan Bioekologi *Bacillus*

Secara morfologi *Bacillus* spp. menunjukkan warna putih sampai kekuningan atau putih suram, dengan tepi koloni bermacam-macam. Akan tetapi sering dijumpai bentuk koloni tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, koloni besar dan tidak mengkilat. Bentuk koloni dan ukurannya sangat bervariasi tergantung dari jenisnya. Selain itu, setiap jenis juga menunjukkan kemampuan dan ketahanan yang berbeda-beda dalam menghadapi kondisi lingkungannya, misalnya ketahanan terhadap panas, asam, kadar garam dan sebagainya. Selain itu, sel *Bacillus* spp. berbentuk batang dan mempunyai flagel peritrikus (Hatmanti, 2000).

Bacillus spp. merupakan kelompok bakteri Gram positif, bersifat aerobik dan anaerobik fakultatif serta merupakan bakteri pembentuk endospora, sehingga tahan terhadap kekeringan, untuk terpapar radiasi ultraviolet dan pelarut organik. (Monteiro *et al.*, 2005). Selain itu, *Bacillus* spp. memiliki karakteristik tertentu, diantaranya, mampu mereduksi nitrat, mampu tumbuh pada suhu maksimum 55°C dan minimum 5°C, mampu menghidrolisis pati, serta bersifat oksidatif-fementatif. *Bacillus* spp. dapat membentuk asam sitrat dari karbohidrat glukosa, arabinosa, manitol, dan silosa, dengan enzim yang dihasilkan berupa protease, amilase, dan kitinase. Bakteri tersebut dapat membentuk endospora dan dapat bertahan hidup dalam waktu yang lama pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan untuk pertumbuhannya (Buchanan dan Gibson, 1974).

Menurut Harwood dan Cutting (1990) *Bacillus* spp. termasuk bakteri mesofilik yang mampu membentuk koloni baik pada suhu 37°C selama 24 jam. *Bacillus* spp. merupakan genus yang mudah tumbuh pada berbagai kondisi, baik yang menguntungkan dengan oksigen yang cukup ataupun kekurangan oksigen. *Bacillus* spp. mudah ditumbuhkan meskipun telah dipanaskan selama 80°C selama 15 menit. Putra dan Giyanto (2014) menambahkan, *Bacillus* spp. adalah bakteri antagonis yang dapat ditemukan di air, tanah, udara, dan residu tanaman yang telah membusuk. Medic (2006) menambahkan, *Bacillus* spp. tersebar di alam (tanah, air dan udara) serta apabila ditumbuhkan pada media agar, *Bacillus* banyak membentuk koloni yang tersebar pada cawan yang berwarna koloni putih susu

dengan ukuran yang tidak teratur. Keberadaan *Bacillus* spp. berada di dalam tanah dan aktif di permukaan tanah dikarenakan kemampuannya dalam memanfaatkan bahan organik yang stabil disamping memanfaatkan eksudat akar, juga produk dari metabolisme yang toksik yang berada di daerah rhizosfer (Harwood dan Archibald, 1990).

2.3 Potensi *Bacillus* Sebagai Agens Hayati

Bacillus spp. merupakan bakteri yang bersifat menguntungkan karena mempunyai sifat antagonis. Antagonis dapat dimanfaatkan sebagai upaya pengendalian hayati, karena adanya daya antagois yang dapat mengganggu pertumbuhan patogen. Menurut Suriani dan Muis (2016), salah satu mikroorganisme sebagai agen hayati yang dapat digunakan untuk pengendalian tular tanah adalah *Bacillus* spp.

Bacillus spp. termasuk PGPR (*Plant Growth Promotion Rhizobacteria*). *Bacillus* berperan sebagai *bioprotectan* karena bakteri tersebut menghasilkan antibiotik sehingga *Bacillus* spp. mampu menekan intensitas penyakit di lapang (Wahyuliyati, 2007). Strain *Bacillus* spp. dalam menekan intensitas penyakit yaitu dengan cara menginduksi ketahanan secara sistemik serta menghasilkan antibiotik. Zat-zat yang dihasilkan oleh *Bacillus* spp. diantaranya yaitu *gramicidin*, *tythricin*, *zwittermiin*, *circulin*, *latersporin*, *bacytracin*, *polymyxin*, *colistin*, *diffidin*, *subtilin*, *mycobacillin* (Kenneth Todar University of Wiscosin-Madison Dept. Of Bacteriology, 2005). Dwidjoepuro (2003) menambahkan, *B. subtilis* mampu menghasilkan antibiotik berupa bacitracin dan subtilin.

Bacillus spp. mampu berperan sebagai agens hayati patogen tumbuhan melalui mekanisme antibiosis dengan menghasilkan senyawa penghambat (senyawa antimikrobia) diantaranya antibiotik, peptida, senyawa fenol dan enzim, alkaloid, dan siderofor. Senyawa antibiotik yang dihasilkan bakteri dari genus *Bacillus* spp. dapat merusak dinding sel bakteri patogen. Sehingga aktivitas metabolisme bakteri patogen menjadi terganggu dan menyebabkan sel bakteri patogen mati. Pengaruh senyawa antibiotik juga memiliki peran dalam proses sintesa protein sel. Sintesa protein sel dapat terhambat bila terkena senyawa

antibiotik sehingga sel menjadi rusak dan tidak dapat melakukan sintesa protein (Hajijah, 2016).

Kim et al., (1997) dalam Mufarokkah (2007), mengemukakan bahwa *Bacillus* spp. mempunyai beberapa strain diantaranya *B. subtilis* A 13 dari Australia dengan aktivitasnya yang mampu menghambat sembilan patogen selanjutnya mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman pangan, jagung manis dan wortel. Strain yang lain adalah *B. subtilis* GB 03 mampu mengendalikan “damping off” pada kapas, *B. cereus* UW 85 untuk “damping off” alfalfa. *B. megaterium* B 153-23 untuk mengendalikan *Rhizoctonia* spp. pada kedelai yang mempunyai habitat dalam rhizosfer, sehingga dapat mengendalikan patogen yang menyerang akar.

Mufarokkah (2007) dalam penelitiannya menunjukkan potensi *Bacillus* spp. dalam menekan bakteri patogen *Erwinia cartovora*, *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* (Wati, 2017). Khaeruni et al., (2013) mengemukakan beberapa strain *Bacillus* mampu menekan patogen *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora capsici* dan *Rhizoctonia solani* secara *in vitro*. Hasil penelitian Masnilah dan Mihardjo (2004) menunjukkan bahwa *B. subtilis* isolat Bskdp dapat menekan serangan *Ralstonia solanacearum* pada tomat mencapai 20% pada tanah steril dan 23,3% pada tanah non steril.

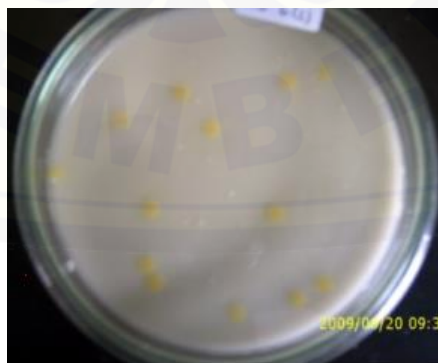
2.4 Patogen Tanaman

Patogen tanaman merupakan mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Patogen tumbuhan umumnya memperoleh nutrisi, air, dan segala sesuatu dari inangnya. Keberadaan patogen pada jaringan tanaman dampak berdampak negatif terhadap pertumbuhan dan produktifitas dari tanaman tersebut, patogen dapat menyebabkan kerusakan baik kualitas maupun produk yang dihasilkan oleh tanaman, sehingga dapat menurunkan nilai jual dari produk pertanian tersebut (Pscheidt, 2011). Beberapa patogen tanaman yang termasuk patogen penting dan banyak dijumpai di lahan pertanian serta menyebabkan kerugian yang cukup tinggi adalah *Fusarium* sp. dan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Hillocks dan Waller, 1997).

2.4.1 *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

X. Oryzae pv. *oryzae* (*Xoo*) merupakan bakteri patogen penyebab penyakit Hawar Daun Bakteri (HDB), yang merupakan penyakit penting padi, karena dapat menyebabkan kerusakan yang cukup tinggi pada tanaman budidaya. Bakteri ini bersifat Gram Negatif dengan bentuk batang pendek dan koloni berwarna kekuningan (Gambar 2.1). Hasil penelitian Bahtiar dkk (2017), menunjukkan karakteristik bakteri *Xoo* Gram negatif, tidak mampu menghidrolisasi pati, bersifat patogenik, dan virulen. Bakteri *Xanthomonas* dapat bertahan hidup dalam tanah, jerami tanaman terinfeksi, sisa-sisa tanaman, benih, dan gulma. Bakteri ini dapat bertahan 1-3 bulan di tanah tergantung pada kelembaban dan keasaman tanah (Sudir dkk., 2012).

Gejala yang ditimbulkan oleh bakteri ini tergolong khas, yaitu mulai dari terbentuknya garis basah pada helaian daun yang akan berubah menjadi kuning kemudian putih. Gejala ini umum dijumpai pada stadium anakan, berbunga, dan pemasakan. Serangan penyakit pada tanaman yang masih muda dinamakan kresek, yang dapat menyebabkan daun berubah menjadi kuning pucat, layu, dan kemudian mati. Kresek merupakan bentuk gejala yang paling merusak. Serangan oleh bakteri *Xoo* di Indonesia menyebabkan kerugian hasil panen mencapai 21-36% pada musim hujan dan pada musim kemarau sebesar 18-28%. Luas penularan penyakit HDB pada tahun 2006 mencapai lebih dari 74 ribu ha, 16 ha diantaranya menyebabkan tanaman puso (Wahyudi dkk., 2011).



Gambar 2.1 Morfologi koloni patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* yang ditandai dengan koloni berwarna kuning (Sumber: Wahyudi dkk., 2011)

2.4.2 *Fusarium* sp.

Fusarium merupakan patogen penyebab penyakit layu pada tanaman. Gejala awal dari penyakit layu *Fusarium* adalah pucat tulang-tulang daun. Terutama daun-daun atas. Kemudian diikuti dengan menggulungnya daun yang lebih tua (epinasti) karena merunduknya tangkai daun dan akhirnya tanaman menjadi layu keseluruhan. Pada tanaman yang masih sangat muda penyakit dapat menyebabkan tanaman mati secara mendadak, karena pada pangkal batang terjadi kerusakan. Sedangkan tanaman dewasa yang terinfeksi sering dapat bertahan terus dan membentuk buah tetapi hasilnya sangat sedikit dan kecil-kecil (Semangun dalam Nurzannah dkk., 2014).

Jamur *Fusarium* sp. dalam perkembang biakannya membentuk dua jenis spora seksual yaitu spora mikrokonidium dan spora makrokonidium. Spora mikrokonidium bersel tunggal, tidak bersekat, tidak berwarna, dan berdinding tipis dengan bentuknya bulat telur sampai lurus. Sementara pada spora makrokonidium bentuknya lancip, ujungnya melengkung seperti bulan sabit dan bersekat. Pada keadaan tertentu menghasilkan kladospora berwarna coklat muda, dindingnya tebal, ukuran 6-10 μm , dibentuk diujung terminal atau di tengah hifa. Pada media PDA mula-mula misellium berwarna putih (Gambar 2.2), semakin tua warna menjadi krem atau kuning pucat, dalam keadaan tertentu berwarna merah muda hingga ungu. Misellium bersekat dan membentuk percabangan. Beberapa isolat *Fusarium* akan membentuk pigmen biru atau merah di dalam medium (Juniawan, 2015).



Gambar 2.1 Morfologi hifa *Fusarium* pada media PDA

(Sumber: Juniawan, 2015)

2.5 Hipotesis

1. Terdapat kelimpahan *Bacillus* spp. pada rhizosfer gulma.
2. *Bacillus* spp. asal rhizosfer gulma berpotensi dalam menekan patogen tanaman: *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan *Fusarium* sp. secara *in vitro*.
3. *Bacillus* spp. yang memiliki kemampuan unggul berhasil diidentifikasi secara fisiologi dan biokimia.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret 2018 sampai dengan Oktober 2018 bertempat di Kecamatan Kalisat Kabupaten Jember untuk pengambilan sampel, dan kegiatan isolasi serta identifikasi yang dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah sendok tanah, plastik, label, timbangan analitik, mikroskop, tabung reaksi, petridish, vortex, lampu bunsen, L-glass, dan mikropipet.

Bahan yang digunakan yaitu, sampel tanah rhizosfer gulma, isolat *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, isolat *Fusarium* spp, spirtus, aquades, alkohol, tanaman tembakau, KOH 3%, H₂O₂, NaCl 7%, minyak mineral steril, media perbanyakan (NA, YPGA, PDA), dan media uji (NB, pati, OF, fermentasi glukose; sukrose; manitol).

3.3 Persiapan Penelitian

3.3.1 Survey Penentuan Lokasi

Pemilihan lokasi dikakukan di Kabupaten Jember melalui *survey* pada beberapa lahan yang terdapat tanaman gulma. Lokasi penelitian ditentukan dengan menggunakan cara pengamatan dan penentuan lahan sesuai dengan kriteria yang digunakan pada penelitian. Penentuan lahan pengamatan dengan menggunakan penentuan *optimum sample size* dengan dasar beberapa penelitian yang dilakukan di Balai Penelitian Tanaman Sayuran Lembang (Balitsa Lembang) bahwa lahan yang dijadikan objek pengamatan minimal 100 m² (Balai Ketahanan Pangan dan Penyuluh Pertanian Aceh, 2009).

3.3.2 Peremajaan Isolat Patogen

a. Isolat Patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Isolat patogen bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* diperoleh dari koleksi Sultan Agung Bachtiar dan diremajakan pada media YPGA. Isolat *Xoo* diambil sebanyak satu ose kemudian dicampurkan dengan 5 ml air steril dan divortex hingga homogen. Satu ose bakteri dari suspensi tersebut digoreskan pada media YPGA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam.

b. Isolat Patogen *Fusarium* sp.

Isolat patogen cendawan *Fusarium* sp. diperoleh dari koleksi saudara Ales Cucu Puntarti. Peremajaan patogen dilakukan dengan cara mengambil bagian isolat *Fusarium* sp. menggunakan jarum en dan ditumbuhkan pada media PDA secara septik. Setelah itu, diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari hingga cendawan memenuhi petridish (Nurzannah dkk., 2014)

3.4 Pelaksanaan Penelitian

3.4.1 Pengambilan Sampel dan Isolasi Bakteri Asal Rhizosfer Gulma

Pengambilan sampel tanah dilakukan dengan metode *random sampling* menggunakan sendok tanah. Sampel asal rhizosfer gulma diambil pada kedalaman ± 10 cm dari permukaan. Semua sampel yang diambil kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik dan diberi label untuk dibawa ke laboratorium.

Isolasi dilakukan dengan metode pengenceran (*dillution*). Sebanyak 1 gr tanah yang telah di oven pada suhu 80°C selama 2 jam, dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan air steril hingga volume 10 ml, lalu divortex hingga homogen. Suspensi tersebut kemudian di pipet sebanyak 1 ml, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml air steril. Pengenceran berseri dilakukan sampai 10^{-6} . Suspensi sebanyak 1 ml pada pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dikulturkan ke dalam petridish yang telah berisi media padat NA kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

3.4.2 Seleksi Bakteri Calon Agens Hayati

a. Uji Gram

Uji gram dilakukan untuk membedakan spesies bakteri menjadi dua kelompok besar yaitu, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Sebanyak satu ose isolat bakteri yang telah berumur 48 jam diletakkan pada gelas objek dan ditetesi menggunakan KOH 3%. Isolat bakteri dan KOH 3% diaduk dan dicampur hingga merata. Jarum ose kemudian diangkat secara perlahan. Apabila isolat tersebut lengket atau berlendir, maka bakteri ber-Gram negatif. Akan tetapi, jika tidak lengket bakteri tersebut ber-Gram positif (Schaad *et al.*, 2001).

b. Perhitungan Populasi Bakteri

Jumlah koloni mikroba pada cawan petri yang telah menunjukkan Gram positif kemudian dihitung menggunakan metode cawan hitung (*plate count*) (Alhabsyi dkk., 2016).

c. Uji Hipersensitif

Pengujian reaksi hipersensitif bertujuan untuk mengetahui potensi patogenitas bakteri calon agens hayati terhadap tanaman. Uji ini dilakukan terhadap tanaman tembakau pada jaringan daun yang telah membuka sempurna. Metode yang dilakukan adalah dengan mengambil suspensi inokulum dari isolat bakteri yang telah diinkubasikan selama 48 jam dengan kerapatan 1×10^8 cfu/ml kemudian diinfiltrasikan pada daun tembakau. Inkubasikan selama 48 jam atau hingga munculnya gejala hipersensitif. Jika muncul gejala nekrosis maka isolat yang diuji merupakan bakteri patogen (Simatupang, 2008).

3.4.4 Uji Antagonisme *Bacillus* spp. Terhadap Patogen Tanaman Secara *In vitro*

a. Uji Daya Hambat *Bacillus* spp. Terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

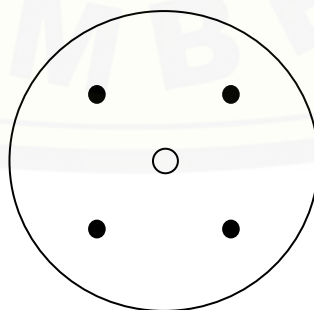
Pengujian daya hambat pada golongan bakteri dilakukan menggunakan metode *screening* bakteri. Screening ini dilakukan dengan metode *dual plating*. Bakteri antagonis ditumbuhkan pada media YPGA dalam petridish, kemudian diinkubasi 48 jam dengan suhu ruang. Setelah diinkubasi petri dibalik pada bagian tutup ditetesi larutan klorofom 1 ml dan didiamkan selama 2 jam hingga

semua klorofom menguap, kemudian petri dibalik seperti keadaan semula. Sebanyak 0,2 ml suspensi bakteri patogen yang berumur 48 jam dicampur dengan 4 mls agar air 0,6% dan dituang di atas biakan bakteri antagonis. Hasilnya kemudian diinkubasikan selama 24-48 jam.

Untuk mengetahui tipe mekanisme penghambatan, agar yang berada pada zona hambatan diambil secara aseptis dengan menggunakan scapel steril kemudian dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 1% air pepton dan dihancurkan menggunakan jarum preparat. Air pepton yang berisi tersebut kemudian dishaker selama 24 jam pada suhu 28°C. Air pepton yang menjadi keruh menunjukkan bakteri tersebut bersifat bakteristatik, sementara air pepton yang tidak menjadi keruh terus dishaker selama lima hari. Apabila air pepton tersebut tetap tidak keruh, maka mekanisme penghambatan bersifat bakteriosidal (Aini, 2007).

b. Uji Daya Hambat *Bacillus* spp. Terhadap *Fusarium* sp.

Pengujian daya hambat bakteri antagonis dengan cendawan patogen dilakukan dengan menggunakan metode biakan ganda (*dual culture*) yaitu dengan cara mengambil masing-masing-masing isolat diambil menggunakan jarum ose. Isolat dibiakkan pada media PDA dengan jarak 3 cm dari tepi cawan petri. Kemudian diinkubasikan selama satu minggu pada suhu ruang dan diamati zona hambat yang terbentuk (Dharmaputra et al., 1999). Skema penempatan bakteri antagonis dengan cendawan patogen dapat dilihat pada gambar di bawah ini:



Gambar 1. Skema penempatan cendawan patogen (O) dengan bakteri antagonis uji (●) dengan metode *dual culture*.

Keterangan:

- : Bakteri antagonis *Bacillus* spp.
- : Cendawan patogen *Fusarium* sp.

3.4.5 Identifikasi Isolat *Bacillus* spp. Secara Morfologi dan Fisiologi

Uji morfologi dengan pengklasifikasian berdasarkan warna koloni, bentuk koloni, ukuran koloni dan, tepi koloni. Uji fisiologi dan biokimia dilakukan dengan menggunakan pengujian menurut metode yang digunakan W. Chun and K. Vidaver dalam buku Schaad *et al.*, (2001) yaitu melalui pengujian sebagai berikut:

a. Uji Katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui aktivitas katalase bakteri yang akan diuji. Uji ini dilakukan dengan meneteskan hydrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada gelas obyek yang bersih. Biakan dioleskan pada gelas obyek yang sudah ditetesi hydrogen peroksida dengan ose. Suspensi dicampur secara perlahan menggunakan ose, hasil yang positif ditandai oleh terbentuknya gelembung-gelembung (Dewi, 2013).

b. Uji Hidrolisa Pati

Uji Hidrolisa Pati ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisa pati atau amilum. Uji ini dilakukan dengan mengambil isolat bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium pati, kemudian diinkubasikan selama 3-5 hari. Setelah berumur 5 hari, medium ditetesi dengan reagen pati. Reaksi positif terjadi apabila disekitar koloni bakteri yang tumbuh menjadi bening, reaksi negatif apabila di sekitar koloni bakteri menjadi gelap/berwarna biru tua (Schaad *et al.*, 2001).

c. Pertumbuhan Anaerobik Pada Media NB

Inokulasikan isolat pada media NB dan inkubasi dalam keadaan anaerob. Sebagai alternatif, tambahkan minyak mineral steril pada media dan inkubasi pada suhu 24°C (Schaad *et al.*, 2001).

d. Pertumbuhan Suhu 45°C

Isolat bakteri yang berumur 48 jam ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Broth*) yang kemudian disimpan pada suhu 45°C - 65°C selama 5 hari. Medium yang menjadi keruh menunjukkan reaksi positif (Schaad *et al.*, 2001).

e. Pertumbuhan pH 5,7

Isolat bakteri yang berumur 48 jam ditumbuhkan pada media NB (*Nutrient Broth*) yang disesuaikan pada pH 5,7 kemudian disimpan pada suhu ruang selama 5 hari. Medium yang menjadi keruh menunjukkan reaksi positif (Schaad *et al.*, 2001).

f. Pertumbuhan 7% NaCl

Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan bakteri yang berumur 48 jam pada medium NB yang mengandung NaCl 7%. Medium yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi pada suhu kamar selama 5 hari. Medium yang menjadi keruh menunjukkan reaksi positif. Konsentrasi dapat ditentukan dengan mengulangi pengujian dengan kisaran konsentrasi NaCl dari 1- 6% (Schaad *et al.*, 2001).

g. Produksi Asam

Senyawa karbohidrat disterilisasi secara terpisah (glukosa, sukrosa, dextrosa, manitol, dan sorbitol kadar 1%). Menusukkan inokulasi tabung duplikat pada media yang mengandung karbohidrat yang sesuai. Tutup salah satu tabung dengan minyak mineral steril sampai kedalaman 1 cm. Inkubasikan selama 7-14 hari pada suhu ruang. Reaksi asam yang terbentuk ditunjukkan dengan perubahan warna dari hijau menjadi kuning (Schaad *et al.*, 2001).

3.5 Variabel Pengamatan

1. Perhitungan Populasi *Bacillus* spp.

Perhitungan total populasi bakteri dihitung dengan metode cawan hitung (*Total Plate Count*) (Lay, 1994). Adapun rumus yang digunakan adalah sebagai berikut:

$$\sum \text{Populasi} = \frac{x}{p \times v}$$

Keterangan :

x = jumlah koloni yang tumbuh pada cawan

p = faktor pengenceran

v = volume suspensi yang yang disebar pada cawan (ml) (Putra dan Giyanto, 2014).

2. Uji Daya Hambat *Bacillus* spp. Secara *In vitro* Pengamatan uji antagonisme bakteri antagonis dengan bakteri patogen dilakukan dengan cara mengukur zona bening yang terbentuk disekitar koloni. Pengamatan untuk bakteri antagonis dengan patogen cendawan dilakukan dengan pengukuran jari-jari miselium cendawan patogen. Adapun rumus presentase hambatan pertumbuhan radial (Hajjah, 2016) adalah sebagai berikut:

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

Keterangan: R1= jari-jari koloni patogen yang menjauh dengan koloni bakteri antagonis uji

R2 = jari-jari koloni patogen yang mendekati koloni bakteri antagonis uji

3. Karakteristik *Bacillus* spp. Secara Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi *Bacillus* mengacu pada tabel identifikasi W. Chun and A. K. Vidaver dalam buku Schaad et al., (2001).

3.6 Analisis Data

Hasil data yang diperoleh kemudian dianalisis secara deskriptif mengacu pada sumber-sumber yang ada.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Sebanyak 17 isolat *Bacillus* spp. yang berhasil diisolasi dari rhizosfer gulma *Cyperus rotundus*, *Limnocharis flava*, *Eleusine indica*, *Mimosa pudica*, dan *Portulaca ocellarea*.
2. 17 isolat *Bacillus* spp. yang ditemukan mampu menghambat pertumbuhan cendawan *Fusarium* sp. dengan presentasi daya hambat mencapai 73% dan hanya 15 isolat *Bacillus* spp. yang mampu menghambat patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* dengan mekanisme hambatan bakteriostatik serta zona bening yang dihasilkan mencapai 14 mm.
3. Hasil identifikasi terhadap 5 isolat unggul *Bacillus* spp. ditemukan karakteristik bakteri yang memiliki kemiripan dengan spesies *B. subtilis*, *B. licheiformis*, *B. alvei* dan *B. coagulans*.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan *Bacillus* asal rhizosfer gulma dengan aplikasi *green house* dan lapang, serta penelitian lebih lanjut mengenai karakteristik masing-masing strain yang ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

- A.Umul., Bambang, S., dan Didiet, H.S. 2012. Eksplorasi Mikrobial Rhizosfer Tumbuhan Pantai Potensial Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *J. Agroteknologi*
- Aini, N.E. 2007. Efektifitas Beberapa Isolat *Bacillus* spp. dalam Menghambat *Ralstonia solanacearum* Pada Cabai. Skripsi. Universitas Jember: Jember
- Alhabsyi, N., Feky, R.M., dan Febby, E.F.K. 2016. Perhitungan Angka Kuman dan Identifikasi Bakteri Dari Alat Makan Pada Restoran, Warung Makan Permanen Sederhana, dan Pedagang Makanan Kaki Lima Di Kota Manado. *J. Ilmiah Farmasi*, Vol. 5(2): Pg 2302-2493
- Ambarwati, A., Langkah, S., and C.J. Soegihardjo. 2012. Antibiotic Produced by *Streptomyces* Associated with Rhizosphere of Purple Nut Sedge (*Cyperus rotundus* L.) in Surakarta, Indonesia. *J. of Microbiology Research*, Vol. 6(1): Pg 52-57
- Arwiyanto, T. 1997. Pengendalian hayati Penyakit Layu Bakteri Tembakau Isolasi Bakteri. *J. Perlindungan Tanaman*. Vol. 3(1): Pg 54-60
- Balai Ketahanan Pangan dan Penyuluh Pertanian Aceh. 2009. *Budidaya Tanaman Jagung*. Balai Pengkajian Teknologi Pertanian NAD: Nangroe Aceh Darussalam.
- Buchanan, R.E., and N.E. Gibbons. 1974. *Bergey's Manual of Determinate Bacteriology*. Waverly Press Inc. American
- Dewi, A. 2013. Isolasi, Identifikasi, dan Uji Sensitivitas *Staphylococcus aureus* Terhadap Amoxilin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Ettawa (PE) Penderita Mastitis Di Wilayah Girimulyo, Kulonprogo, Yogyakarta. *J. Sain Veteriner*, Vol. 31(2): Pg 138-150
- Dharmaputra, O.S., A.W. Gunawan, R. Wulandari., dan T. Basuki. 1999. Cendawan Kontaminan Dominan Pada Bedengan Cendawan Merang dan Interaksinya dengan Cendawan Merang secara *in vitro*. *J. Mikro. Indonesia*, Vol. 4(1): Pg 14-18
- Dwidjoeputro. 1985. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Djambatan: Malang
- Erfin., Natsir, S., dan La Malesi. 2016. Identifikasi Bakteri *Azospirillum* dan *Azotobacter* Pada Rhizosfer Asal Komba-komba (*Chromolaena odorata*). *J. Jitro*, 3(2): 1-9

- Estuningsih, P.S., Muharni., dan Marindah, R. 2012. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Hidrokarbon di Sekitar Rumpun Belulang (*Eleusine indica* (L.) Gaertn) yang Berperan dalam Fitoremediasi Limbah Minyak Bumi. *J. Penelitian Sains*, Vol. 15(1): Pg 1-12
- Fajrin, A.N.V., Iqbal, E., dan Damanhuri. 2017. Identification of N-fixing Bacteria at The Center Edamame Cultivation (*Glycine max* (L.) Merr.) in Jember. *J. of Applied Agricultural Sciences*. Pg 158-169
- Hajjah, W.S. 2016. Eksplorasi dan Identifikasi Bakteri Agens Hayati Dari Permukaan Tubuh Lundi (*Coleoptera: Scarabaeidae*). Skripsi Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Hardestyari, D., Bambang, Y., dan Munawar. 2013. Eksplorasi bakteri Hidrokarbonoklasik dari Rhizosfer di Lahan Tambang Minyak Rakyat, Kec. Babat Toman, Sumatera Selatan. *J. Penelitian Sains*, 16 (3) Pg 1-8
- Harwood, C.R., and S.R Cutting. 1990. *Molecular Biological Methods for Bacillus*. University of Newcastle. John Willey Ltd. England
- Hatmanti, A. 2000. Pengenalan *Bacillus* spp. *Journal of Oseana*, 25(1): Pg 31-41
- Hidayah, N dan Titiek, Y. 2015. Uji Antagonisme *Bacillus cereus* Terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. *Buletin Tanaman Tembakau*, 7(1) Pg 1-8
- Hillocks, R.J. and J.M. Waller. 1997. *Soilborne Diseases of Tropical Crops*. University of Minnesota: CAB International
- Juniawan. 2015. Mengenal Jamur *Fusarium oxysporum*. <http://bbppketindan.bppsdp.pertanian.go.id/blog/mengenal-jamur-fusarium-oxysporum>. [serial online]
- Kenneth Todar University of Wisconsin Madison Dept. of Bacteriology. 2005. The Genus *Bacillus*. <http://textbookofbacteriology.net/Bacillus.html>. [serial online]
- Khaeruni, A., Asrianti dan Abdul Rahman. 2013. Efektivitas Limbah Cair Pertanian Sebagai Media Perbanyakan Dan Formulasi *Bacillus Subtilis* Sebagai Agens Hayati Patogen Tanaman. *J. Agroteknos*, Vol. 3(3): Pg 144-151
- Lay. B.W. 1994. *Analisa Mikrobiologi di Laboratorium*. PT. Raja Grafindo Persada: Jakarta

- Masnilah, R., dan Paniman, A.M. 2004. Pemanfaatan *Bacillus subtilis* Untuk Pengendalian Hayati Bakteri Layu Pada Tomat yang Berwawasan Lingkungan. Laporan Penelitian Universitas Jember
- Medic. 2006. <http://medic.med.uth.tmc.edu/path/00001437.htm>. [Serial Online]
- Monteiro, L., Rosa, D.L.R.M., and Ana, M.S.M. 2005. Antagonism of *Bacillus* spp. Against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *J. Biology and Technology*, Vol. 48(1): Pg 23-29
- Mufarokkah, F. 2007. Isolasi dan Daya Antagonisme *Bacillus* spp. Terhadap bakteri Busuk Batang Berlubang *Erwinia cartovora* Pada Tanaman Tembakau Secara *in vitro*. Skripsi. Universitas Jember: Jember
- Mukamto., S. Ulfah., Weda, M., Ahmad, S., Laili, I., dan Guntur, T. 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Pelarut Fosfat Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *J. Sains dan Matematika*, Vol. 3(2): Pg 62-68
- Nurzannah, E.S, Lisnawati., dan Darma, B. 2014. Potensi jamur Endofit Asal Cabai Sebagai Agens Hayati Untuk Mengendalikan Layu Fusarium (*Fusarium oxysporum*) Pada Cabai dan Interaksinya. *J. Agroteknologi*, Vol. 2(3): Pg 1230-1238
- Prihartiningsih, N., Triwidodo, A., Bambang, H., dan Jaka, W. 2015. Mekanisme Antibiosis *Bacillus subtilis* B315 Untuk Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Kentang. *J. HPT Tropika*, Vol. 15(1): Pg 64-71
- Pscheidt, B.J.W. 2011. *Plant Diseases*. Kentucky Master Gardener Manual Chapter 6. University of Kentucky. Pg 83-94
- Puspita, F., Delita, Z., dan Amrul, K. 2013. Potensi *Bacillus* sp. Asal Rizosfer Giam Siak Kecil Bukit Batu Sebagai Rhizobacteria Pemacu Pertumbuhan dan Antifungi Pada Pembibitan Kelapa Sawit. Prosiding Seminar Nasional, Riau: Pekanbaru
- Putra, M.C., dan Giyanto. 2014. Kompatibilitas *Bacillus* spp. dan *Aktinomiset* Sebagai Agens Hayati *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Pemicu Pertumbuhan Padi. *J. Fitopatologi Indonesia*, Vol. 10(5): Pg 160-169
- Schaad, N.W., J.B Jones and W, Chun. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. USA: Onacid. Pg 175-193
- Semangun. 2001. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada Univ. Pers

- Simatupang, D. 2008. Berbagai Mikroorganisme Rhizosfer Pada Tanaman Pepaya (*Carica papaya* L.) di Pusata Kajian Buah-buahan Tropika (PKBT) IPB Desa Ciomas, Kec. Pasirkuda, Kab. Bogor, Jawa Barat. Skripsi. Institut Pertanian Bogor: Bogor
- Soamole, F., Zauzah, A., dan Hayun, A. 2018. Pengaruh Pertumbuhan Gulma Krokot (*Portulaca oleracea*) Terhadap Pertumbuhan dan Tanaman Bawang Merah *Allium ascolanicum* 'TOPO'. J. Biological. Pg 41-46
- Soeka, S.Y., Sri, H.R., Ninu, S., dan Elidar, N. 2011. Kemampuan *Bacillus licheniformis* dalam Memproduksi Enzim Protease yang Bersifat Alkalin dan Termofilik. Litbang Kesehatan, 21(2): pg 89-95
- Soesanto, L (2008). *PengantarPengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Perkasa: Jakarta.
- Sudir, B.N., dan Triny, S.K. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri Pada Tanaman Padi. J. Iptek Tanaman Pangan, Vol. 7(2): Pg 79-87
- Suriani dan A. Muis. 2016. Prospek *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah Pada Tanaman Jagung. J. Litbang Pertanian, Vol. 35(1): Pg 37-45
- Tehrani, A.S., dan Ramenzani. 2003. Pengendalian Penyebab Penyakit Layu Bawang Merah dengan Menggunakan Bakteri Antagonis Commun. J. Agric, 68(4): Univ. Teheran: Karaj, Iran.
- Tjahjadi, N. 1989. *Hama dan Penyakit Tanaman*. Yogyakarta: Kanisius
- Wahyudi, T.A., Siti, M., dan Abdjad, A.N. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* Bakteri Penyebab Hawar Daun Pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, dan Telaah Mutagenesis Dengan Transporon. J. Sains, Vol 15(1): Pg 89-96
- Wahyuliyati, S. 2007. Pengendalian Hayati Bakteri Busuk Batang Berlubang *Erwinia cartovora* Pada Tanaman tembakau Varietas H-382 Dengan *Bacillus* spp. di Lapang. Skripsi. Univirsitas Jember: Jember
- Waluyo L. 2010. *Tekhnik dan Metode Dasar dalam Mikrobiologi*. Malang: UMM Press
- Wati, T.A.F.D. 2017. Efektifitas *Bacillus* spp. Sebagai Agen Pengendali Hayati Busuk Hitam *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* Pada Kubis. Skripsi: Universitas Jember: Jember

Widhikinasih, H., Hardian, S.A., dan Hartadi. 2014. Daya Hambat Fitotoksin Bakteri Patogen Pada Gulma Wewehan (*Monochoria vaginalis* Burm F. Presi). *J. Ilmu Pertanian*

Widyati, E. 2013. Dinamika Komunitas Mikroba Di Rhizosfer Dan Kontribusinya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Hutan. *J. Tekno Hutan Tanaman*, Vol. 6(2): Pg 55-64



LAMPIRAN

Lampiran 1. Pengamatan Uji antagonis *Bacillus* terhadap *Xanthomonas oryzae pv.oryzae*

Kode isolat	Zona bening (cm)						
	X1	X2	X3	X4	D1	D2	
BPM01	0,5	0,5	0,4	0,5	0,9	1	0,95
BPM02	0,3	0	0,4	0,3	0,7	0,3	0,5
BPM03	0,7	0,8	0,6	0,7	1,3	1,5	1,4
BPM04	0,5	0,3	0,2	0,3	0,7	0,6	0,65
BPM05	0	0	0	0	0	0	0
BPM06	0,5	0,5	0,5	0,5	1	1	1
BPM07	0,5	0,6	0,3	0,3	0,8	0,9	0,85
BPM08	0	0	0	0	0	0	0
BE01	0,3	0,2	0,3	0,3	0,6	0,5	0,55
BE03	0,2	0,1	0,1	0,3	0,3	0,4	0,35
BT03	0,6	0,4	0,5	0,4	1,1	0,8	0,95
BT05	0,6	0,7	0,6	0,5	1,2	1,2	1,2
BT09	0,5	0,4	0,4	0,3	0,9	0,7	0,8
BL03	0,6	0	0,3	0,5	0,9	0,5	0,7
BL07	0,6	0,5	0,5	0,4	1,1	0,9	1
BP01	0	0,4	0,3	0,3	0,3	0,7	0,5
BP09	0,6	0,5	0,4	0,6	1	1,1	1,05

Lampiran 2. Pengamatan uji OF dan media fermentasi

Kode Isolat	Perlakuan	Minggu-1			Minggu-2		
		Manitol	Sukrose	Glukose	Manitol	Sukrose	Glukose
BPM	P	K	K	K	K	K	K
	NP	H	K	KH	H	KH	HK
BL	P	HK	K	K	HK	K	K
	NP	H	KH	HK	H	KH	H
BE	P	K	K	K	K	K	K
	NP	H	KK	HK	H	KH	H
BT	P	K	K	K	K	K	K
	NP	H	K	K	H	KH	K
BP	P	K	K	K	K	K	K
	NP	H	KH	H	H	H	H

Keterangan: P = parafin, NP = non parafin, K = kuning, H = hijau, KH = 70% kuning; 30% hijau, HK = 70% hijau; 30% kuning

Lampiran 3. Pengamatan Uji antagonis *Bacillus* terhadap *Fusarium* sp.

Perlakuan	Hari ke- (cm)					Zona hambat (%)				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
F (R1)	0,8	1,4	2,6	3,3	3,8					
F+BPM01	0,3	0,6	1	1,2	1,4	62,5	57,14286	61,53846	63,63636	63,15789
F+BPM02	0,5	0,8	1,1	1,5	1,8	37,5	42,85714	57,69231	54,54545	52,63158
F+BPM03	0,3	0,5	0,9	1,3	1,6	62,5	64,28571	65,38462	60,60606	57,89474
F+BPM04	0,2	0,5	0,8	0,9	1,3	75	64,28571	69,23077	72,72727	65,78947
F+BPM05	0,3	0,4	0,8	1,1	1,5	62,5	71,42857	69,23077	66,66667	60,52632
F+BPM06	0,3	0,5	0,9	1,3	1,4	62,5	64,28571	65,38462	60,60606	63,15789
F+BPM07	0,4	0,6	0,9	1,2	1,3	50	57,14286	65,38462	63,63636	65,78947
F+BPM08	0,3	0,7	1	1,4	1,6	62,5	50	61,53846	57,57576	57,89474
F+BE01	0,4	0,8	1,3	1,5	1,7	50	42,85714	50	54,54545	55,26316
F+BE03	0,3	0,4	0,7	0,9	1	62,5	71,42857	73,07692	72,72727	73,68421
F+BT03	0,5	0,7	1	1,3	1,5	37,5	50	61,53846	60,60606	66,66667
F+BT05	0,6	1	1,2	1,3	1,5	25	28,57143	53,84615	60,60606	60,52632
F+BT09	0,6	0,8	1	1,2	1,4	25	42,85714	61,53846	63,63636	63,15789
F+BL03	0,3	0,6	0,9	1,1	1,3	62,5	57,14286	65,38462	63,63636	63,15789
F+BL07	0,4	0,5	0,8	1	1,3	50	64,28571	69,23077	69,69697	65,78947
F+BP01	0,5	0,7	1	1,3	1,4	37,5	50	61,53846	60,60606	63,15789
F+BP09	0,2	0,5	0,7	1	1,2	75	64,28571	73,07692	69,69697	68,42105

Lampiran 4. Hasil Pemurnian Isolat *Bacillus* spp.

No.	Kode Isolat	Asal Rhizosfer	Morfologi			Gambar	
			Bentuk	Warna	Tepi		Ukuran
1	Bt 3, 5, 9	<i>Cyperus rotundus</i> L.	Bulat	Putih kusam	Tidak rata	Kecil	
2	Bpm 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8	<i>Mimosa pudica</i> L.	Bulat	Putih	Tidak rata	Sedang	
3	Bl 3, 7	<i>Limnocharis flava</i>	Bulat	Putih pudar	Rata	Kecil	
4	Bp 1, 9	<i>Portulaca oleracea</i>	Bulat	Putih	Tidak rata	Sedang	
5	Be 1, 3	<i>Eleusine indica</i>	Bulat	Putih kusam	Tidak rata	Kecil	

Lampiran 5. Dokumentasi Penelitian



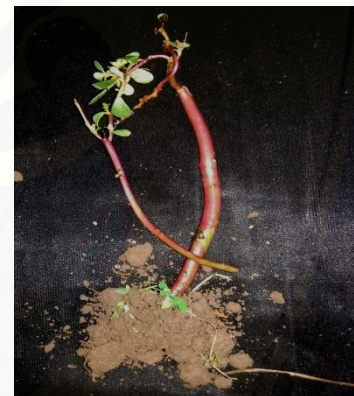
Proses pengambilan sampel



Gulma *Cyperus rotundus* pada tanaman padi



Gulma *Eleusine indica* pada tanaman jagung



Gulma *Portulaca oleracea* pada tanaman cabai



Sampel tanah perakaran gulma



Proses kering angin sampel



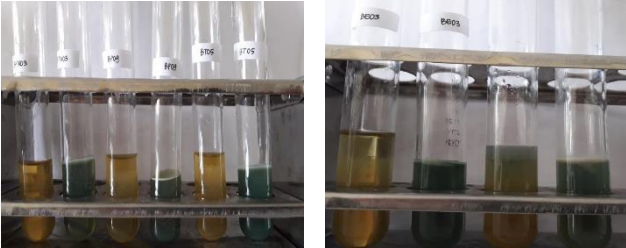
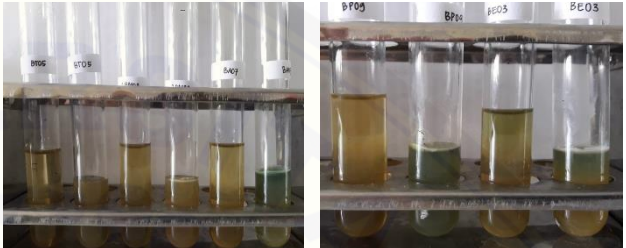
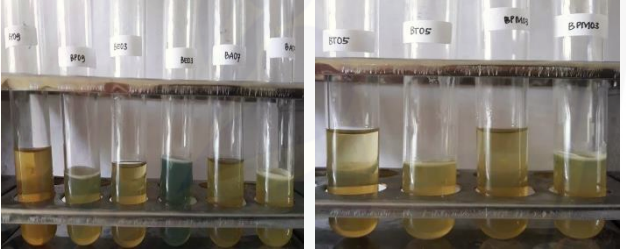
Proses inokulasi bakteri pada daun tembakau



Penentuan kadar pH pada media cair



Penentuan suhu dengan oven

No.	Pengujian	Dokumentasi
1	Manitol	
	Glukose	
	Sukrose	
2	Oksidatif-fermentatif	