



KARAKTERISTIK DAN POTENSI PSEUDOMONAD FLUORESENS UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR PENYEBAB PENYAKIT RHIZOCTONIA PADA KEDELAI SECARA *IN VITRO*

KARYA ILMIAH TERTULIS (SKRIPSI)

Diajukan Guna Memenuhi Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan
Program Strata Satu (S1) Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan
Fakultas Pertanian Universitas Jember



Oleh

RENY WINARSIH ADININGRUM

971510401023

Asal:	Revisi	Kelas
Terima di: 04 MAR 2002		574.232
No. Induk: 0489		AD1
KLATIR / PERTALING	(dars)	2

PROGRAM STUDI ILMU HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

2002

PEMBIMBING :

Ir. Abdul Majid, MP (DPU)

Yunik Istikorini, SP. MP (DPA)

Diterima Oleh :

FAKULTAS PERTANIAN UNIVERSITAS JEMBER

Sebagai Karya Imiah Tertulis (Skripsi)

Dipertahankan Pada.

Hari : Kamis

Tanggal : 28 Pebruari 2002

Jam : 11.00 WIB

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas
Jember

**Tim Penguji
Ketua**



(Ir. Abdul Majid, MP)

NIP. 132 003 094

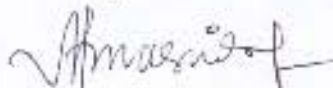
Anggota I



(Yunik Istikomari, SP, MP)

NIP. 132 125 678

Anggota II




(Ir. Rachmi Masnilah, MSi)

NIP. 131 756 539



**Mengesahkan
Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Jember**



(Ir. Arie Mudjiharjati, MS)

NIP. 130 609 808

KATA PENGANTAR

Segenap rasa syukur penulis Panjatkan kepada Allah SWT, sehingga karya tulis Ilmiah yang berjudul "**KARAKTERISTIK DAN POTENSI PSEUDOMONAD FLUOERESENS UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR PENYEBAB PENYAKIT RHIZOCTONIA PADA KEDELAI SECARA *IN VITRO***" dapat terselesaikan .

Karya tulis ini disusun berdasarkan hasil penelitian yang dilaksanakan selama 4 bulan dari bulan April 2001 sampai Agustus 2001 guna melengkapi persyaratan dalam menyelesaikan Studi Program Strata Satu (SI) pada Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.

Keberhasilan ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, maka pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada :

1. **Ir. Abdul Majid, MS** dan **Yunik Istikorini, SP. MP**, selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan dorongan dan koreksi hingga terselesaikannya penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
2. **Ir. Rachmi Masnilah, MSi**, Selaku Dosen Penguji II yang telah memberi bimbingan pemikiran dalam menyelesaikan penulisan Karya Tulis Ilmiah ini.
3. **Dekan Fakultas Pertanian.**
4. **Ketua Jurusan Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember.**
5. Almarhum dan almarhumah bapak dan Ibu, kakak-kakakku serta keponakanku yang telah banyak memberi dukungan moral dan material selama studi.
6. Seluruh mahasiswa HPT angkatan 97 dan 96.

Pebruari, 2002

Penulis

DAFTAR ISI

JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
ABSTRAK	x
RINGKASAN	xi
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Tujuan Penelitian	2
1.3 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Penyakit Rhizoctonia Pada Kedelai	4
2.1.1 Penyebab Penyakit Rhizoctonia	5
2.1.2 Gejala Penyakit	6
2.1.3 Penyebaran dan Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan patogen	7
2.2 Pengendalian Penyakit Rhizoctonia	8
2.3 Pseudomonad Fluoresens	8
2.3.1 Sifat morfologi Fisiologi Pseudomonad Fluoresens	8
2.3.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan dan Perkembangan Pseudomonad Fluoresens	9
2.3.3 Potensi Pseudomonad Fluoresens Sebagai Agen Hayati	10
2.4 Hipotesis	11

III. METODE PENELITIAN	12
3.1 Bahan dan Alat	12
3.2 Metode Penelitian	12
3.2.1 Pengadaan Isolat <i>R. solani</i>	12
3.2.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis (Pseudomonad Fluoresens)	14
A. Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens.....	14
B. Pengujian Sifat-sifat Fisiologi Bakteri	15
C. Uji Sifat Antagonisme <i>In vitro</i>	18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	20
4.1 Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens	20
4.2 Identifikasi Karakteristik Fisiologi Bakteri Pseudomonad Fluoresens.....	20
4.3 Hasil Pengujian Antagonisme Secara <i>In vitro</i>	32
V. KESIMPULAN	35
5.1 Kesimpulan	35
5.2 Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

No.	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Lokasi Sampel Tanah dan Nama Isolat	20
2.	Karakteristik Fisiologis Bakteri Isolat Ar. 1, Aj. 1, dan Tg. 1 dibandingkan dengan Karakteristik dari Palleroni (1984), Stolpdan Gadkari (1981) serta Lelliot dan Stead (1987)	21
3.	Rata-rata Diameter Koloni (mm) <i>R. solani</i> pada Pengujian Antagonisme <i>In vitro</i>	32
4.	Rata-rata Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Terhadap <i>R. solani</i>	33

DAFTAR GAMBAR

No.	<u>Teks</u>	Halaman
1.	Morfologi Koloni <i>R. solani</i> dari Tanaman Kedelai A= Miselia <i>R. solani</i> , B= Sklerotia <i>R. solani</i> yang Muda C= Sklerotia <i>R. solani</i> yang Tua	13
2.	Morfologi <i>R. solani</i> dengan Ciri Hifa Tegak Lurus	14
3.	Tata Letak Isolat <i>R. solani</i> dan Bakteri Antagonis Pada Pengujian <i>In vitro</i>	18
4.	Hasil Uji Oksidatif-fermentatif Isolat Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	21
5.	Hasil Uji FluoresensBakteri Pseudomonad Fluoresenspada Media King's B A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	22
6.	Hasil uji Hidrolisis Pati pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	23
7.	Hasil Uji Reduksi Nitrat pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	24
8.	Hasil Uji Pembentukan Indol pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	25
9.	Hasil Uji Pembentukan Levan Sukrosa pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	26
10.	Hasil Uji Pembusukan Kentang pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	27
11.	Hasil Uji YDCA pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1	28
12.	Hasil Uji Hipersensitif Tembakau pada Isolat Bakteri Pseudomonad Fluoresens A= Kontrol, B= Ar. 1, C= Aj. 1, D= Tg. 1	29
13.	Hasil Uji Hidrolisis Arginin A= Kontrol, B= Ar. 1, C= Aj. 1, D= Tg. 1	
14.	Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Terhadap <i>R. solani</i> pada Media PIDA A= Kontrol, B= Ar. 1, C= Aj. 1, D= Tg. 1	32

DAFTAR LAMPIRAN

No	Teks	Halaman
1.	Bagan Isolasi Pseudomonad Fluoresens(Stolp dan Gadkari, 1981)	41
2.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-2	42
3.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-3	42
4.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-4	42
5.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-5	42
6.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-6	43
7.	Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur <i>R. solani</i> Pengamatan Hari Ke-7	43
8.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan Hari 2 ...	43
9.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan hari 3 ...	43
10.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan hari 4 ..	44
11.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan hari 5 ..	44
12.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan hari 6 ..	45
13.	Sidik Ragam Persentase Penghambatan <i>P. fluorescens</i> Pengamatan hari 7 ...	45
14.	Komposisi Bahan Medium Oksidatif-Fermentatif	46
15.	Komposisi Bahan Medium King's B	46
16.	Komposisi Bahan Medium Hidrolisis Pati	46
17.	Komposisi Bahan Medium Pengujian Indol	46
18.	Komposisi Bahan Medium Levan Sukrosa	46
19.	Komposisi Bahan Nutrien Agar	47
20.	Komposisi Bahan reagen Kovacs	47
21.	Komposisi Bahan Reagen A + B.....	47
22.	Komposisi Bahan Medium Pencairan Gelatin	47
23.	Komposisi Bahan Media YDCA	47
24.	Komposisi Bahan Media Nutrient Broth	47
25.	Komposisi Bahan Media Hidrolisis Arginin	48

KARAKTERISTIK DAN POTENSI PSEUDOMONAD FLUORESENS
UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR PENYEBAB
PENYAKIT RHIZOCTONIA PADA KEDELAI
SECARA *IN VITRO*

Reny Winarsih Adiningrum
971510401023

ABSTRAK

Penyakit Rhizoctonia yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani* kuhn. Merupakan salah satu penyakit penting yang dapat menyebabkan kerugian pada tanaman kedelai sampai 90%. Salah satu teknik pengendalian yang aman dan diharapkan dapat menekan penyakit tersebut adalah pengendalian hayati dengan memanfaatkan bakteri *Pseudomonad Fluoresens*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi *Pseudomonad Fluoresens* yang di isolasi dari rizosfer kedelai di daerah Jember dan mengetahui efektifitas *Pseudomonad Fluoresens* tersebut sebagai agensia hayati jamur *R. solani* pada kedelai secara *in vitro*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa, ketiga isolat *Pseudomonad Fluoresens* memberikan reaksi negatif pada uji hidrolisis pati, pembentukan indol, reduksi nitrat, hipersensitif tembakau dan bereaksi positif pada uji gram, katalase, oksidatif, fluorescens, levan sukrosa, pembusukan kentang dan pencairan gelatin, koloni berwarna krem pada uji YDCA, bakteri bereaksi pada uji hidrolisis arginin serta mampu tumbuh dengan baik pada suhu 25^o C – 37^o C. Berdasarkan karakteristik diatas, ketiga isolat bakteri *Pseudomonad Fluoresens* adalah *Pseudomonas fluorescens* Hasil uji *in vitro* menunjukkan bahwa semua isolat *P. fluorescens* mampu menghambat pertumbuhan koloni *R. solani*. Persentase penghambatan *P. fluorescens* tertinggi di dapat dari isolat Aj. 1 sebesar 77,8 %.

Kaata kunci : Kedelai, Rhizoctonia, *Pseudomonad Fluoresens*

RINGKASAN

Reny Winarsih Adiningrum, 971510401023, Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan. Karakteristik dan Potensi Pseudomonad Fluoresens Untuk Menghambat Pertumbuhan Jamur Penyebab Penyakit Rhizoctonia Pada Kedelai Secara *In vitro*. Ir. Abdul Majid, MP. Sebagai Dosen Pembimbing Utama, Yunik Istikorini, SP. MP. Sebagai Dosen Pembimbing Anggota.

Penyakit Rhizoctonia merupakan salah satu penyakit penting pada pertanaman kedelai. Penyakit tersebut menyebabkan busuk benih, rebah kecambah dan hawar daun. Penyakit Rhizoctonia yang disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani* kuhn tersebut, dapat menimbulkan kerugian sampai 90 persen. Sehingga diperlukan upaya pengendalian yang efektif.

Pengendalian yang selama ini dilakukan adalah dengan pestisida dan rotasi tanam. Penggunaan pestisida secara tidak bijaksana dapat menimbulkan dampak yang kurang menguntungkan bagi lingkungan dan rotasi tanam kurang efektif untuk mengendalikan patogen yang bersifat tular tanah, karena patogen dapat bertahan lama dalam tanah meskipun tidak ada inang. Sehingga perlu dicari alternatif pengendalian yang lain, misalnya pengendalian secara biologi dengan memanfaatkan bakteri antagonis Pseudomonad Fluoresens.

Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi Pseudomonad Fluoresens yang di isolasi dari rizosfer kedelai di daerah Jember dan untuk mengetahui efektifitas Pseudomonad Fluoresens tersebut sebagai agensia hayati jamur *R. solani* pada kedelai secara *in vitro*. Adapun penelitian yang dilakukan meliputi identifikasi bakteri Pseudomonad Fluoresens dan pengujian antagonisme secara *In vitro*. Identifikasi dilakukan dengan mencrapkan serangkaian pengujian yang meliputi uji gram, katalase, oksidatif-fermentatif, fluorescens, hidrolisis pati, reduksi nitrat, pembentukan indol, levan sukrosa, pembusukan kentang, pencairan gelatin, dan hipersensitif tembakau, uji YDCA, uji hidrolisis arginin dan pengaruh suhu. Uji antagonisme *in vitro* dilakukan dengan meletakkan empat kertas filter yang mengandung Pseudomonad Fluoresens pada empat titik di dalam cawan petri yang

berisi media PDA dan secara bersamaan diinokulasikan *R. solani* di bagian tengah dari keempat kertas filter yang mengandung *Pseudomonad Fluoresens* tersebut.

Berdasarkan hasil uji fisiologis ketiga isolat bakteri *Pseudomonad Fluoresens* memberikan reaksi negatif pada pengujian hidrolisis pati, pembentukan indol, reduksi nitrat, hipersensitif tembakau. Untuk uji fisiologis yang menghasilkan reaksi positif pada pengujian gram, katalase, oksidatif, fluorescens, levan sukrosa, pembusukan kentang dan pencairan gelatin koloni berwarna krem pada uji YDCA, bakteri bereaksi pada hidrolisis arginin serta mampu tumbuh dengan baik pada suhu $25^{\circ}\text{C} - 37^{\circ}\text{C}$.

Berdasarkan hasil pengujian yang telah dilakukan disimpulkan bahwa bakteri *Pseudomonad Fluoresens* di daerah Arjasa, Ajung dan Tanggul adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Ketiga isolat bakteri tersebut efektif untuk menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* dengan persentase penghambatan *Pseudomonas fluorescens* tertinggi, yaitu pada isolat Aj. 1 sebesar 77,8 %.

**Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas
Jember, Tahun 2002.**



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Permasalahan

Penyakit Rhizoctonia seperti busuk pangkal batang (pra dan pasca tumbuh), hawar daun dan busuk polong disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* Kuhn, yang merupakan jamur tular tanah. Penyakit ini banyak dijumpai pada areal pertanaman kedelai, dengan kerusakan yang cukup berarti terutama pada cuaca lembab dan panas (Semangun, 1993). Busuk akar dan busuk pangkal batang Rhizoctonia sering menyebabkan kematian terutama pada fase pertumbuhan awal tanaman kedelai yang di kenal sebagai penyakit rebah kecambah pra dan pasca tumbuh (*pre dan post emergence damping - off*) dengan kerugian sekitar 90% (Sudjono *et al.*, 1993).

Pengendalian penyakit, di antaranya adalah dengan pestisida, dan rotasi tanaman. Penggunaan pestisida secara tidak bijaksana dan terus-menerus akan menimbulkan dampak yang kurang menguntungkan terhadap lingkungan, baik secara langsung maupun tidak langsung (Lakitan, 1995). Menurut Sinaga (1994) rotasi tanaman sering tidak efektif untuk mengendalikan patogen yang bersifat tular tanah karena patogen dapat bertahan lama dalam tanah meskipun tidak ada inang.

Salah satu alternatif pengendalian yang diharapkan mampu mengurangi serangan penyebab penyakit Rhizoctonia adalah pengendalian hayati dengan memanfaatkan mikroorganisme antagonis. Penggunaan agensia antagonis tersebut diharapkan mampu mengurangi ketergantungan terhadap pestisida. Keberhasilan pengendalian hayati pada patogen yang bersifat tular tanah sangat menguntungkan, karena selain tidak mempunyai efek samping yang membahayakan lingkungan hidup, juga apabila telah berhasil diintroduksi ke dalam tanah agensia hayati pengendali tersebut efektif untuk periode yang cukup lama (Howell, 1982). Salah satu agensia antagonis yang dewasa ini dikembangkan adalah *Pseudomonad Fluorescens* (Oedjiono, 1994).

Pseudomonad Fluoresens merupakan kelompok bakteri *Pseudomonas* yang paling banyak digunakan dalam pengendalian hayati, yang terdiri dari *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. Putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* (Oedjijono, 1994). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa Pseudomonad Fluoresens efektif mengendalikan beberapa penyakit yang disebabkan oleh golongan jamur maupun dari golongan bakteri. Beberapa penyakit tanaman dari golongan jamur yang telah dikendalikan dengan Pseudomonad Fluoresens di antaranya *R. solani* (Suslow, 1978); *Pythium* sp (Kim and Misaghi, 1996), *Gaumnomyces graminis*, *G. tritici*, *Sarocladium oryzae*, *Penicillium* sp, *Pytophthora* sp, *Sclerotium* sp (Weller, 1988); sedang pemanfaatan Pseudomonad Fluoresens untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan dari golongan bakteri, di antaranya adalah : *Erwinia* sp (Wilson and Backman, 1997), *P. solanacearum*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus* spp, *Escherichia coli*, *Clostridium* spp, *Salmonela* spp, *Streptococcus* spp (Gurusiddaiah et al., 1986)

Potensi antagonisme Pseudomonad Fluoresens terhadap patogen disebabkan oleh beberapa senyawa yang dihasilkan, di antaranya antibiotik, siderofor, substansi folatil (Oedjijono, 1994), dan sebagai pengkoloni akar sehingga efektif untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh patogen tular tanah (Wakimoto, 1991).

Berdasarkan hal di atas, perlu dilakukan penelitian mengenai karakteristik fisiologi isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer kedelai di daerah Jember serta potensinya untuk menghambat pertumbuhan koloni *R. solani* sebagai penyebab penyakit Rhizoctonia pada kedelai sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati secara efektif dan aman bagi lingkungan di lapang.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk : (1) mengidentifikasi *Pseudomonad* Fluoresens yang di isolasi dari rizosfer kedelai di daerah Jember, (2) mengetahui efektifitas *Pseudomonad* Fluoresens tersebut sebagai agensia hayati jamur *R. solani* pada kedelai secara *in vitro*

1.3 Manfaat Penelitian

Isolat bakteri *Pseudomonad* Fluoresens yang sudah diketahui karakteristik fisiologi serta potensinya diharapkan dapat menjadi dasar untuk pengembangan bakteri tersebut, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agensia hayati untuk menekan pertumbuhan *R. solani* pada tanaman kedelai secara efektif, murah dan aman bagi lingkungan.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penyakit Rhizoctonia Pada Kedelai

Penyakit Rhizoctonia merupakan salah satu penyakit utama pada tanaman kedelai. *Rhizoctonia solani* dapat menimbulkan beberapa macam penyakit pada tanaman kedelai. Nama penyakit yang ditimbulkan tergantung dari bagian kedelai yang diinfeksi, antara lain busuk akar, busuk batang, busuk daun, dan busuk polong. *R. solani* dapat pula menginfeksi tanaman kedelai yang masih sangat muda (bibit), yang dikenal dengan penyakit *damping - off* (Anonim, 1975). *R. solani* Kuhn merupakan patogen yang mampu bertahan lama dalam tanah dengan membentuk sklerotia sebagai struktur dorman (Sudjono *et al.*, 1993).

Tingkat keparahan penyakit Rhizoctonia dipengaruhi oleh faktor lingkungan, di antaranya kelembaban tanah, temperatur tanah, pH tanah, dan gulma (Anonim 1995). Penyakit Rhizoctonia akan berkembang pada kondisi temperatur tanah berkisar antara 28-30^oC serta pada suhu 26-30^oC, dengan tingkat kelembaban tanah lebih dari 60% dan keadaan tanah dengan pH 5,8-8,1 (Papavizas, 1970).

Kataria and Grover (1987) melaporkan bahwa hifa *R. solani* tumbuh merata pada tanah pasir yang basa atau netral dibandingkan dengan tanah pasir yang asam. Chet and Baker (1980) mengemukakan bahwa serangan berat *R. solani* hanya terjadi pada keadaan tanah asam. Hal ini terjadi karena pembentukan konidia dan perkecambahan spora dari organisme antagonis terangsang, sehingga kepadatan propagul dari *R. solani* dapat ditekan (Papavizas, 1970). Selain itu adanya gulma sebagai inang pengganti pada saat tanaman yang dibudidayakan tidak ada di lapang juga berperan dalam menunjang perkembangan siklus penyakit (Anonim, 1999).

Penyakit Hawar daun *Rhizoctonia* pada kedelai dilaporkan pertama kali terjadi di Filipina pada tahun 1918 dan kemudian di RRC pada tahun 1919 (Anonim, 1975). Menurut Semangun (1993) saat ini penyakit *Rhizoctonia* pada kedelai telah tersebar luas di seluruh pertanaman kedelai di Indonesia. Akibat serangan penyakit tersebut bisa menimbulkan kerugian sebesar 90% (Sudjono, 1993).

2.1.1 Penyebab Penyakit *Rhizoctonia*

Penyakit *Rhizoctonia* disebabkan oleh jamur *Rhizoctonia solani* Kuhn (Semangun, 1993). Alexopoulos dan Mims (1979) menyatakan bahwa jamur *R. solani* dapat diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Amastigomycota
Sub divisi	: Deuteromycotina
Kelas	: Deuteromycetes
Sub kelas	: Hyphomycetidae
Ordo	: Agonomycetales
Genus	: <i>Rhizoctonia</i>
Spesies	: <i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn

Menurut Semangun (1993) diameter hifa dari *R. solani* umumnya berukuran lebih dari 5 μm , tidak menghasilkan spora tetapi membentuk sklerotium, percabangan hifa membentuk sudut agak siku atau siku. Hifa tersebut tidak berwarna ketika masih muda dan apabila sudah tua akan berwarna coklat. Sklerotiumnya berdiameter kurang dari 1-3 mm. Agrios (1996) menyatakan bahwa sklerotium dari *R. solani* berwarna coklat, tidak berkulit, bentuknya tidak teratur, pipih biasanya terletak di permukaan tumbuhan inang dan dihubungkan oleh benang-benang miselium berwarna coklat.

2.1.2 Gejala Penyakit

R. solani dapat menginfeksi beberapa bagian dari tanaman kedelai yaitu akar, batang, daun, dan polong. *R. solani* jika menginfeksi tanaman kedelai yang masih dalam pembibitan (tanaman muda) dapat menyebabkan terjadinya *damping off* (Semangun, 1993).

Menurut Shurtleff (1980) gejala penyakit *Rhizoctonia* pada tanaman kedelai di pembibitan dicirikan dengan matinya tanaman sebelum muncul di atas tanah. Sebelum tanaman muncul di atas tanah, *R. solani* segera menyerang dan mematikan ujung pertumbuhan dari tanaman sehingga tanaman segera menjadi mati. Apabila infeksi *R. solani* terjadi setelah tanaman muncul di atas permukaan tanah, jamur menyerang batang dan menyebabkan terjadi pembusukan pada batang serta tanaman tidak dapat menunjang untuk tetap berdiri sehingga tanaman rebah dan akhirnya mati.

Infeksi *R. solani* pada lapisan akar utama dan pangkal batang menunjukkan gejala khas ialah terjadinya pembusukan perakaran dan pangkal batang yang berwarna kecoklat-coklatan, kemudian membentuk semacam kanker cekung berwarna coklat kemerah-merahan. Kanker dapat meluas ke atas dan tanaman menjadi layu kemudian mati (Rukmana dan Yuniarsih, 1996).

Menurut Agrios (1996) tanaman yang terserang *R. solani*, apabila dicabut dan dibelah, pada pangkal batang berwarna coklat sampai hitam. Hal ini disebabkan adanya kematian jaringan pangkal batang akibat infeksi *R. solani*, yang selanjutnya meluas ke bagian yang sehat.

Daun yang terinfeksi *R. solani* akan menunjukkan gejala pada mulanya bercak tampak sebagai bagian kebasah-basahan berwarna hijau kelabu dan akhirnya berubah menjadi coklat muda, coklat atau hitam, kadang-kadang dengan tepi coklat kemerah-merahan, biasanya infeksi di mulai dari pangkal tangkai daun. Bercak tersebut dapat berkembang dengan cepat pada kondisi lembab, pada daun-daun yang terinfeksi akan muncul benang-benang seperti sarang laba-laba sehingga daun terikat satu sama lain (Semangun, 1993).

Polong yang terinfeksi *R. solani* akan menunjukkan gejala bercak berbentuk tidak beraturan dengan permukaan cekung, ukuran 2 cm, dan berwarna kecoklat-coklatan. Bercak tersebut menghasilkan miselia atau sklerotium yang berwarna putih kecoklat-coklatan. Apabila miselia menyebar ke seluruh permukaan polong akibatnya polong menjadi busuk (Anonim, 1990).

2.1.3 Penyebaran dan Faktor yang Mempengaruhi Perkembangan Patogen

R. solani merupakan patogen yang bersifat parasit fakultatif dan dapat bertahan di dalam tanah pada sisa-sisa tanaman secara saprofit apabila tidak dijumpai tanaman inang. Eksudat-eksudat akar dari lobak, kedelai, khususnya wortel, dan tomat diketahui dapat menaikkan pertumbuhan saprofit dari *R. solani*. Suhu untuk pertumbuhan saprofitik *R. solani* berkisar antara 20-30°C, sedangkan suhu optimum untuk menimbulkan kerugian maksimal pada tanaman antara 16-25°C (Domsch *et al.*, 1980). Menurut Dwidjoseputro (1990) mekanisme bertahan yang terutama dengan struktur dorman yaitu sklerotium. Masa dorman akan berakhir apabila kondisi lingkungan cocok untuk perkecambahannya. Menurut Domsch *et al.*, (1980) sklerotium dapat bertahan hidup terus untuk beberapa bulan bahkan apabila masak dapat mencapai beberapa tahun.

Mekanisme bertahan hidup *R. solani* yang lain adalah bertahan hidup pada tanaman inang lain (*alternatif host*). *R. solani* mempunyai kisaran inang yang sangat luas meliputi *graminae*, *leguminosae*, dan *solanaceae* (Semangun, 1993).

Tanah merupakan lingkungan kompleks di dalam ekosistem tanah dan jamur *R. solani* akan infeksi jika dekat dengan tanaman inang (Anonim 1998). Menurut Semangun (1993) kelembaban yang tinggi dan air hujan merupakan faktor yang paling penting untuk perkembangan dan penyebaran penyakit Rhizoctonia. Penyakit terutama berkembang apabila cuaca lembab, tanaman yang mengandung miselium dan sklerotium *R. solani* dapat terbawa oleh percikan air hujan dan mencapai daun-daun bagian bawah sehingga tanaman menjadi terinfeksi.

Penyakit Rhizoctonia pada kedelai akan meningkat apabila tanaman tumbuh dalam tanah yang kekurangan kalsium, besi, magnesium, nitrogen, fosfor, belerang atau kombinasi dari unsur-unsur hara tersebut (Anonim, 1993). Gulma juga dapat berperan dalam siklus penyebaran penyakit, sebagai inang pengganti pada saat tanaman yang dibudidayakan tidak ada di lapang (Anonim, 1998).

2.2 Pengendalian Penyakit Rhizoctonia

Usaha pengendalian yang dapat dilakukan untuk mengurangi infeksi *R. solani* antara lain dengan mengurangi kelembaban di sekitar tanaman, pengaturan pH tanah, penggunaan benih sehat bebas patogen, dan aplikasi fungisida. Pengendalian dengan aplikasi fungisida tanah mungkin dapat menekan infeksi *R. solani*, namun residu yang ditinggalkan tetap menjadi masalah yang berkepanjangan (Anonim, 1992). Menurut Mudjiono (1992) penggunaan varietas tahan merupakan salah satu teknik pengendalian organisme pengganggu tanaman. Hal ini dapat mengurangi aplikasi pestisida pada pertanaman pertanian, karena penggunaan varietas tahan tidak menimbulkan efek negatif pada lingkungan. Namun pada kenyataannya pelaksanaan cara pengendalian tersebut masih belum efektif sehingga hasilnya belum memuaskan, oleh karena itu dicari alternatif cara pengendalian lain misalnya secara biologi yaitu dengan pemanfaatan mikroorganisme antagonis.

2.3 Pseudomonad Fluorescens

2.3.1 Sifat Morfologi dan Fisiologi Pseudomonad Fluorescens

Menurut Palleroni (1984) genus Pseudomonad mempunyai ciri-ciri morfologi: gram negatif, berbentuk batang, sel berukuran : lebar 0,5-1,0 μm dan panjang 1,5-4 μm , bergerak dengan flagella polar. Sedangkan ciri-ciri fisiologi: obligat aerob, katalase negatif dan tidak fermentatif, kebanyakan strain menghasilkan pigmen fluoresen, arginin hidrolase positif (termasuk dalam kelompok ini adalah

P. aeruginosa, *P. putida*, *P. fluorescens*, *P. chlororaphis*, dan *P. aureofaciens*). Sedangkan yang arginin dihidrolasenyanya negatif adalah *P. syringae* dan *P. cichorii* dan kelompok ini biasanya bersifat fitopatogen.

Spesies- spesies *Pseudomonad Fluoresens* ditandai oleh kemampuannya dalam mengekskresikan pigmen- pigmen hijau-kuning yang larut dan fluoresen di bawah sinar ultraviolet (panjang gelombang 260 nm). Pigmen- Pigmen ini terutama dihasilkan dalam media yang defisiensi besi atau media King's B (Oedjijono, 1994).

2.3.2 Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan dan Perkembangan *Pseudomonad Fluoresens*

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan dan perkembangan bakteri *Pseudomonad Fluoresens* adalah : suhu, derajat keasaman, media tumbuh, kelembaban udara, nutrisi, kandungan garam, dan intensitas cahaya matahari (Arwiyanto, 1997).

Menurut Djatmika (1998) tanah yang banyak mengandung bahan organik tampaknya merupakan substrat yang paling cocok bagi pertumbuhan *Pseudomonad Fluoresens*, hal ini ditunjukkan dari banyaknya jumlah isolat yang di dapat pada tanah yang banyak mengandung bahan organik. Perkembangan populasi *Pseudomonas spp* di dalam media sangat dipengaruhi oleh keadaan media tersebut. Jumlah populasi antagonis yang terdapat dalam media akan menentukan keefektifan bakteri tersebut.

Penekanan penyakit oleh *Pseudomonad Fluoresens* lebih tinggi pada keadaan suhu 18-22^oC dibanding suhu 22-23^oC (Mulya, 1997). Koloni bakteri secara *in vitro*, mampu tumbuh pada NaCl dengan konsentrasi 0-20%. Kisaran suhu bagi pertumbuhan bakteri yaitu 4-41^oC, suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonad Fluoresens* antara 25-30^oC (Palleroni, 1984). Bakteri ini juga dapat tumbuh dengan cepat pada keadaan asam atau pH rendah, pH optimal untuk pertumbuhan bakteri antara 5-10 (Widiyastuti dan Arwiyanto, 2001).

2.3.3 Potensi *Pseudomonad Fluoresens* sebagai Agensia Hayati

Pengendalian patogen pada tanaman dapat dilakukan dengan beberapa cara, antara lain dengan cara kimiawi, biologi, maupun dengan pengendalian secara terpadu. Salah satu aspek pengendalian terpadu yang belum dikembangkan secara optimal adalah pengendalian biologi dengan memanfaatkan bakteri yang bersifat antagonis, di antaranya adalah *Pseudomonas* kelompok *Fluoresens* (Anonim, 2001).

Menurut Kurniawan (1996) sebagian besar bakteri antagonis pada tanaman bersifat saprofitik serta lebih mudah beradaptasi terhadap lingkungan yang kurang baik (misalnya, pada suhu ekstrem, pengaruh antibiotik dan pestisida) bila dibandingkan dengan parasit tanaman. Mekanisme antagonis antara agensia antagonis dengan patogen dapat terjadi dengan cara kompetisi, parasitisme, dan antibiosis.

Menurut Oedjiono (1994) spesies *Pseudomonad Fluoresens* umumnya terdapat di dalam tanah air, sebagian strain ada yang bersifat patogen baik pada manusia, hewan maupun tumbuhan. Disamping itu, sebagian strain dikenal mampu menekan pertumbuhan atau membunuh patogen jamur maupun bakteri. Di antara spesies-spesies *Pseudomonas* yang berfluoresen adalah : *P. aeruginosa*, *P. putida*, dan *P. fluorescens*.

Beberapa isolat *Pseudomonad Fluoresens* telah banyak dilaporkan mampu menekan berbagai jamur patogen di antaranya *R. solani*, *Pythium* spp, *Alternaria* sp, *Verticillium* sp, *Fusarium* spp, *Penicillium* sp, dan *Phytophthora* spp (Weller, 1988).

Kurniawan (1996) menyatakan pada media *King's B*, spesies-spesies bakteri *Pseudomonad Fluoresens* merupakan kelompok fluoresen yang mampu menghasilkan pigmen warna hijau terang atau hijau kebiruan. Pigmen- Pigmen tersebut biasanya dikeluarkan oleh spesies-spesies bakteri penghasil antibiotik.

Aktivitas pigmen *Pseudomonad Fluoresens* menghambat pertumbuhan berbagai jamur uji pada medium biakan disebabkan oleh kemampuannya untuk mengambil unsur besi (Fe^{+3}) dari medium kompleks besi-pigmen. Kelompok *Fluoresens* tersebut lebih memperlihatkan sifat fungistatik dari pada fungisidal (Misaghi *et al.*, 1982).

Menurut Cook (1991) bakteri *Pseudomonad Fluorescens* merupakan kelompok *Pseudomonas* terbesar penghasil antibiotik. Menurut Oedjiono (1994) antibiotik merupakan hasil dari proses metabolit. Antibiotik tersebut di antaranya *Phenazine - I - carboxylate* (Cook, 1991); *Pyrrrolnitrin* (Rodriguez dan Pfender, 1997); *Streptomycin* dan *Oxytetracycline* (Lindow *et al.*, 1996); *Pyocyanine*, *Phenazine* dan *Pyoluteorin* (Oedjiono, 1994). Selain antibiotik, *Pseudomonad Fluorescens* menghasilkan siderofor yaitu *Pseudobactin*. Senyawa ini mengkelat Fe menjadi bentuk senyawa kompleks sehingga mikroba rizosfer tidak dapat memanfaatkan Fe untuk perkembangannya terutama dalam lingkungan dengan Fe terbatas (Cook, 1991).

Menurut Raaijmakers *et al.*, (1995) *Pseudomonad Fluorescens* dapat mengimbas ketahanan sistemik tanaman dengan menghasilkan senyawa fenol. *Pseudomonad Fluorescens* pada sekitar perakaran tanaman juga dapat membantu pertumbuhan tanaman. Hal ini sesuai dengan pendapat Kloepper dan Schroth (1996 dalam Liu, 1995) yang menyatakan bahwa *Pseudomonad Fluorescens* mampu mengkoloni akar dan pada umumnya menguntungkan pertumbuhan tanaman, sehingga disebut PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*).

2.4 Hipotesis

1. Bakteri yang diambil dari rizosfer kedelai di daerah Jember adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*.
2. Bakteri *Pseudomonas Fluorescens* dapat menghambat perkembangan koloni jamur *R. solani* pada tanaman kedelai secara *in vitro*.

III. METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember, yang di mulai bulan April 2001 sampai Oktober 2001.

3.1 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan : air suling steril, benih kedelai, tanah bekas tanaman kedelai, biakan murni *Rhizoctonia solani* dan *Pseudomonas* yang berfluoresens, media bakteri (NA), jamur (PDA) dan King's B, media NB (*Nutrient Broth*), media YDCA (*Yeast Dekstrosa Agar*), media indol, media nitrat, media pati, media levan sukrosa, media oksidatif-fermentatif, media pencairan gelatin, air steril, alkohol 70%, kapas, label, spiritus KOH 3%, H₂O₂, glukosa 5%, minyak parafin, larutan iodine, umbi kentang mentah, tanaman tembakau, reagen kovac, reagen iodine pati

Alat yang digunakan : cawan petri, tabung reaksi, pipet ukur, *laminary air flow*, jarum ose, jarum preparat, mikroskop, *autoklav*, kompor listrik, klorok 3%, gelas obyek, lampu bunsen, erlenmeyer, dan peralatan tulis.

3.2 Metode Penelitian

3.2.1 Pengadaan Isolat *R. solani*

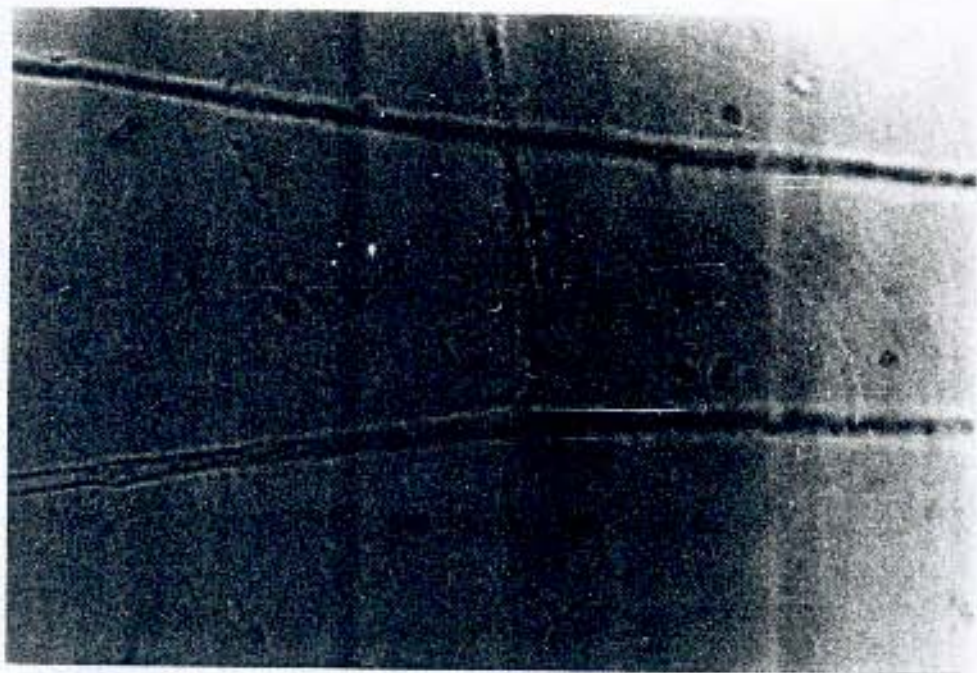
R. solani diisolasi dari bagian pangkal tanaman kedelai yang terserang patogen tersebut dan ditumbuhkan ke dalam medium PDA. Isolat tersebut kemudian diidentifikasi sesuai dengan ciri-ciri jamur *R. solani* yang ada, dan kemudian diperbanyak. Isolasi dilakukan dengan cara menghilangkan kotoran pada bagian tanaman yang menunjukkan gejala dengan menggunakan alkohol 70% serta mencuci dengan air steril. Memotong bagian tanaman yang terletak di antara bagian yang sakit dan yang sehat dengan ukuran 2-3 mm². Potongan-potongan tersebut kemudian dicelupkan ke dalam klorok 3% selama 1-2 menit dan basuh dengan aquades steril dengan cara memindahkan 3 kali secara berturut-turut. potongan-potongan bahan



tersebut di letakkan pada kertas saring steril dan dipindah pada media PDA yang telah disiapkan dalam cawan petri 4-5 potong dengan jarak yang sama, untuk menghindari kontaminasi bakteri teteskan 2-3 tetes 20% asam laktat sebelum media PDA dipindahkan dalam cawan petri. Inkubasi pada tempat yang teduh pada suhu kamar (Sandra, 1985). Setelah dua hari miselium jamur yang tumbuh pada potongan-potongan bahan tersebut diamati secara mikroskopis dengan mencocokkan ciri-ciri jamur *Rhizoctonia solani* yang ada (Alexopoulos dan Mims, 1979). Setelah mendapatkan jamur yang dimaksud, kemudian biakan jamur di pindahkan pada media PDA agar miring untuk biakan murni, diperbanyak dan dibuat stok. Ciri-ciri Jamur *R. solani* dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2.



Gambar 1. Morfologi Koloni *R. solani* dari Tanaman Kedelai
A= Miselia *R. solani*, B= Sklerotia *R. solani* yang muda.
C= Sklerotia *R. solani* yang sudah tua.



Gambar 2. Morfologi *R. solani* dengan Ciri Percabangan Hifa Tegak Lurus.

3.2.2 Isolasi dan Identifikasi Bakteri Antagonis (*Pseudomonad fluoresens*)

A. Isolat bakteri *Pseudomonad fluoresens*

Sampel tanah diperoleh dari tanah perakaran kedelai di daerah Ajung, Arjasa dan Tanggul, yang tidak menunjukkan gejala serangan penyakit.

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran 1 gram tanah dari perakaran kedelai dalam 10 ml air steril kemudian dibuat pengenceran 10^6 . Dari pengenceran 10^6 diambil 1 ml dan inokulasikan pada cawan petri yang berisi media *King's B* dan diinkubasi pada suhu kamar selama tiga hari. Amati pertumbuhan koloni bakteri. Koloni bakteri yang berfluoresen (warna hijau kekuningan) diambil dan dimurnikan pada media *King's B*, selanjutnya isolat bakteri tersebut di uji sifat-sifat fisiologis serta potensinya untuk menghambat jamur *R. solani* secara *in vitro* (Oedjijono, 1994).

B. Pengujian Sifat-Sifat Fisiologi Bakteri

Identifikasi dilakukan dengan menerapkan serangkaian pengujian secara fisiologis yang mengacu pada metode yang dideskripsikan oleh Fahy dan Hayward (1983), meliputi uji oksidatif-fermentatif, uji produksi pigmen fluorescens, uji hidrolisa pati, uji reduksi nitrat, uji pembentukan indol, uji pembentukan levan sukrosa, uji oksidase, uji YDCA, uji pembusukan pada kentang, uji pertumbuhan pada suhu 4°C, 11°C, 25°C, 30°C 37°C, 41°C, uji hipersensitif pada tembakau.

1. Uji Gram

Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam. Gelas obyek dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% untuk menghilangkan kotoran atau lemak yang ada. Kemudian gelas obyek dikeringkan dengan cara memanaskan di atas api bunsen. Pada gelas obyek tersebut diteteskan 1 tetes KOH 3%, kemudian diletakkan 1 ose isolat bakteri yang akan diuji, dicampur dan diaduk sampai merata. Setelah kurang lebih 10 detik campuran isolat bakteri dengan campuran KOH 3% tadi diangkat perlahan-lahan dengan menggunakan jarum ose. Jika campuran bersifat lengket setelah diangkat sekitar 1 cm, maka bakteri tersebut bersifat gram negatif dan reaksi tersebut merupakan reaksi positif (Fahy dan Hayward, 1983).

2. Uji Katalase

Menggunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam dan gelas obyek yang telah dibersihkan ditetesi dengan satu tetes H₂O₂ 3%. Kemudian satu ose bakteri yang digoreskan dalam NA diambil dan diletakkan diatasnya, dicampur dan diaduk sampai merata. Reaksi positif ditandai dengan terdapatnya gelembung-gelembung udara, air dan oksigen. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara (Frobisher, 1962).

3. Uji Oksidatif-fermentatif

Uji oksidatif-fermentatif ini dilakukan dengan menusukkan isolat bakteri yang berumur 24 jam pada kedua jenis media oksidatif-fermentatif yaitu media yang ditutup dengan parafin cair dan yang tidak ditutup dengan parafin cair. Diinkubasi pada suhu kamar selama 14 hari. Bila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada

B. Pengujian Sifat-Sifat Fisiologi Bakteri

Identifikasi dilakukan dengan mencarakan serangkaian pengujian secara fisiologis yang mengacu pada metode yang dideskripsikan oleh Fahy dan Hayward (1983), meliputi uji oksidatif-fermentatif, uji produksi pigmen fluorescens, uji hidrolisa pati, uji reduksi nitrat, uji pembentukan indol, uji pembentukan levan sukrosa, uji oksidase, uji YDCA, uji pembusukan pada kentang, uji pertumbuhan pada suhu 4°C, 11°C, 25°C, 30°C 37°C, 41°C, uji hipersensitif pada tembakau.

1. Uji Gram

Pada pengujian ini digunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam. Gelas obyek dibersihkan dengan menggunakan alkohol 70% untuk menghilangkan kotoran atau lemak yang ada. Kemudian gelas obyek dikeringkan dengan cara memanaskan di atas api bunsen. Pada gelas obyek tersebut diteteskan 1 tetes KOH 3%, kemudian diletakkan 1 ose isolat bakteri yang akan diuji, dicampur dan diaduk sampai merata. Setelah kurang lebih 10 detik campuran isolat bakteri dengan campuran KOH 3% tadi diangkat perlahan-lahan dengan menggunakan jarum ose. Jika campuran bersifat lengket setelah diangkat sekitar 1 cm, maka bakteri tersebut bersifat gram negatif dan reaksi tersebut merupakan reaksi positif (Fahy dan Hayward, 1983).

2. Uji Katalase

Menggunakan biakan bakteri yang berumur 24 jam dan gelas obyek yang telah dibersihkan ditetesi dengan satu tetes H₂O₂ 3%. Kemudian satu ose bakteri yang digoreskan dalam NA diambil dan diletakkan diatasnya, dicampur dan diaduk sampai merata. Reaksi positif ditandai dengan terdapatnya gelembung-gelembung udara, air dan oksigen. Sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak terbentuknya gelembung-gelembung udara (Frobisher, 1962).

3. Uji Oksidatif-fermentatif

Uji oksidatif-fermentatif ini dilakukan dengan menusukkan isolat bakteri yang berumur 24 jam pada kedua jenis media oksidatif-fermentatif yaitu media yang ditutup dengan parafin cair dan yang tidak ditutup dengan parafin cair. Diinkubasi pada suhu kamar selama 14 hari. Bila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada

kamar selama 14 hari. Bila terjadi perubahan warna dari biru menjadi kuning pada media yang tidak tertutup parafin cair, maka bakteri bersifat oksidatif. Dan jika perubahan warna terjadi pada media yang tertutup parafin, maka bakteri bersifat fermentatif. (Pahy dan Hayward, 1983).

4. Uji Produksi Pigmen fluoresensi

Isolat bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium *King's B* dan diinkubasi selama tiga hari pada suhu kamar. Bila di bawah sinar ultra violet bakteri berwarna hijau kebiruan, maka bakteri menghasilkan senyawa fluorescens dan uji bersifat positif (Lelliott dan Stead, 1987).

5. Uji Hidrolisa Pati

Isolat bakteri yang berumur 24 jam diinokulasi pada cawan petri yang berisi medium pati 5-10 ml dan selanjutnya diinkubasikan selama 3-6 hari pada suhu kamar. Setelah diinkubasikan, biakan kemudian ditambah dengan larutan iodin (2% KI + 2% I₂) sebanyak 2-3 tetes. Reaksi negatif ditandai dengan terlapatnya bagian medium yang kontras pada sekitar koloni, dan seluruh medium berwarna hitam dan reaksi positif terdapat bagian yang transparan disekitar koloni bakteri (Lelliott dan Stead, 1987).

6. Uji Reduksi Nitrat

Pertama-tama isolat bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium yang mengandung nitrat dalam tabung. Kemudian diinkubasikan selama 3-7 hari pada suhu ruang. Setelah diinkubasi, ditetesi dengan reagent iodin pati (larutan A + larutan B) sebanyak 5-10 tetes, reaksi positif ditandai dengan terjadinya warna biru pada medium setelah ditetesi reagent iodium pati (Lay, 1994).

7. Uji Pencairan Gelatin

Media yang telah disterilkan diinokulasi dengan biakan bakteri yang berumur kurang lebih 24 jam dengan menggunakan jarum ose pada tabung biakan. Selanjutnya diinkubasikan pada suhu kamar (27° C) selama 48 jam. Untuk mengetahui reaksinya, tabung yang telah diinkubasikan terlebih dahulu disimpan pada suhu 5°C selama

kurang lebih 2 jam. Reaksi positif ditandai dengan cairnya gelatin pada tabung yang diinokulasi (Lelliot dan Stead, 1987).

8. Uji Pembentukan Indol

Kultur bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan pada medium dan diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu ruang. Setelah diinkubasi, biakan ditetesi dengan reagen kovac sebanyak 10 sampai 12 tetes. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah pada medium setelah ditetesi reagen, yang berarti bakteri dapat membentuk indol (Fahy dan Hayward, 1983).

9. Uji Pembentukan Levan Sukrose

Isolat bakteri yang berumur 24 jam ditumbuhkan dalam cawan petri yang berisi 5-10 ml NA yang telah ditambah 5% sukrose. Kemudian diinkubasikan pada suhu kamar selama 2 hari. Reaksi positif ditandai dengan tumbuhnya koloni yang tampak mengkilat, berlendir dan cembung. Sedangkan reaksi yang negatif ditandai dengan tumbuhnya koloni yang berbentuk cekung dan tidak berlendir (Fahy dan Hayward, 1983).

10. Uji YDCA

Satu ose bakteri yang berumur 24 jam diinokulasikan secara goresan ke dalam cawan petri yang mengandung media YDCA. Diinkubasikan pada suhu ruang selama tujuh hari. Melakukan pengamatan warna koloni yang tumbuh pada media YDCA.

11. Uji Pertumbuhan pada Berbagai Suhu

Satu ose isolat bakteri yang berumur 24 jam diinokulasikan ke dalam tabung reaksi yang berisi media nutrient broth. Kemudian meletakkan media untuk suhu 4°C ke dalam lemari es, 11°C, 25°C, 30°C 37°C, dan 41°C di dalam inkubator, setelah ditumbuhkan selama 48 jam, tabung reaksi di kocok dan diamati tingkat kekeruhannya (Lay, 1994).

12. Uji Pembusukan Pada Kentang

Cuci umbi kentang yang sehat, di bersihkan dari tanah dengan air dan sabun. Skapel di bersihkan dengan larutan alkohol 70% kemudian dipanaskan. Umbi kentang dikupas lalu dipotong-potong menjadi irisan setebal 7-8 mm. Selanjutnya

irisan tersebut diletakkan diatas kertas saring yang ditetesi air steril pada cawan petri. Satu ose bakteri berumur 24 jam diinokulasikan dengan cara menggoreskannya di bagian tengah permukaan irisan kentang untuk tiap isolat. Untuk kontrol goreskan air steril pada permukaan tersebut dan diinkubasikan selama 24-48 jam. Terjadinya warna coklat dan busuk kehitaman menandakan terjadinya reaksi positif (Sand, 1990).

13. Uji Hipersensitif Pada Tembakau

Suspensi bakteri yang berumur 24 jam diinjeksikan ke ruang antar sel pada daun tembakau menggunakan jarum suntik dengan volume 1 ml sampai membasahi ruang interseluler dari mesofil daun yang terlihat dari jaringan yang kebasah-basahan. Sebagai kontrol diinjeksikan air steril pada daun tembakau dan diinkubasikan pada suhu kurang dari 30°C selama tujuh hari. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya gejala nekrosis pada tanaman selama tujuh hari pengamatan (Klemen *et al.*, 1990).

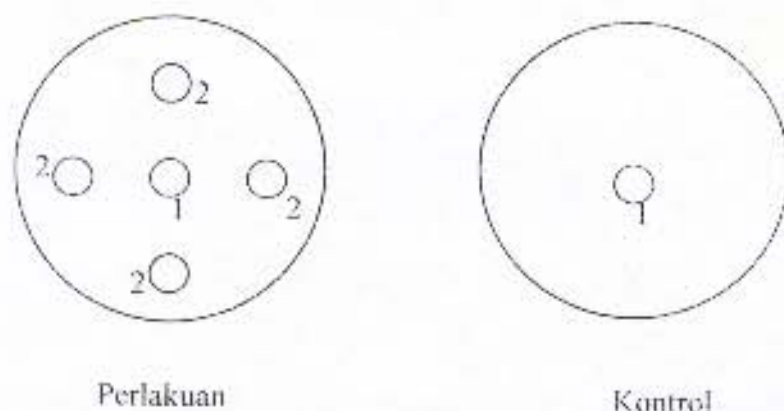
14. Uji Hidrolisis Arginin

Satu ose bakteri yang berumur 24 jam di inokulasikan dengan cara ditusukkan ke dalam tabung reaksi berisi media yang mengandung arginin. Kemudian medium ditutup dengan parafin cair. Diinkubasikan selama tujuh hari pada suhu ruangan. Hasil positif ditunjukkan oleh perubahan warna medium dari merah tua menjadi merah muda atau orange (Oedjijono, 1994).

C. Uji Sifat Antagonisme Secara *In Vitro*

Untuk mengetahui efektifitas bakteri antagonis terhadap jamur *R. solani* pada perlakuan diuji dengan mengambil satu ose bakteri umur 24 jam diencerkan dalam 10 ml air steril untuk dibuat suspensi. Setelah itu menyiapkan potongan kertas blotting steril diameter 5 mm untuk dimasukkan dalam suspensi tersebut. Meletakkan empat potong kertas blotting steril yang telah mengandung *Pseudomonad fluoresens* pada empat titik di dalam cawan petri yang telah berisi media PDA dan secara bersamaan diinokulasikan jamur *R. solani* di bagian tengah dari empat kertas blotting

steril yang mengandung *Pseudomonad fluoresens*. Untuk setiap cawan berisi empat kertas bloting steril yang mengandung isolat *Pseudomonad fluoresens* dari satu lokasi yang sama dan jamur *R. solani* (Gambar 3).



Gambar 3. Tata Letak Isolat *R. solani* dan Bakteri Antagonis pada Pengujian *In vitro*
1= *R. solani* 2= *Pseudomonad fluoresens*

Pengujian di lakukan dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) satu faktor, yaitu asal isolat. Setiap perlakuan diulang 5 kali.

Pengamatan ada tidaknya penghambatan di lakukan setiap hari hingga hari ke tujuh setelah diinokulasi (hsi) dengan mengukur diameter koloni jamur pada perlakuan dan pada kontrol. Persentase penghambatan pertumbuhan jamur dihitung berdasarkan rumus di bawah ini.

$$I = \frac{d1 - d2}{d1} \times 100\% \text{ (Fokhema dalam Abadi, 1987).}$$

Keterangan : I = Persentase penghambatan

d1 = diameter koloni jamur yang berseberangan / kontrol

d2 = diameter koloni jamur yang berhadapan dengan bakteri / perlakuan

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolat Bakteri *Pseudomonad Fluoresens*

Pada penelitian ini menggunakan isolat dari daerah Arjasa, Ajung, dan Tanggul. Ketiga isolat bakteri diambil dari daerah perakaran pertanaman kedelai yang sehat beserta bagian akarnya. Masing-masing isolat memiliki nama yang berbeda, nama isolat dan lokasi pengambilan sampel tanah tercantum pada Tabel 1.

Tabel 1. Lokasi Sampel Tanah dan Nama Isolat

Lokasi Pengambilan Sampel Tanah	Daerah Pengambilan Sampel Tanah	Nama Isolat Bakteri
1. Arjasa	Daerah pertanaman kedelai di Arjasa	Ar. 1
2. Ajung	Daerah pertanaman kedelai di Ajung	Aj. 1
3. Tanggul	Daerah pertanaman kedelai di Tanggul	Tg. 1

Keterangan : + = Reaksi Positif
- = Reaksi Negatif

Ketiga isolat yaitu Ar.1, Aj. 1, Tg. 1 merupakan isolat bakteri yang mengandung senyawa fluoresens pada medium King's B. sehingga ketiga isolat tersebut dapat dipergunakan untuk penelitian.

4.2 Identifikasi Karakteristik Fisiologi Bakteri *Pseudomonad Fluoresens*

Berdasarkan uji fisiologi bakteri memberikan reaksi negatif pada pengujian hidrolisis pati, pembentukan indol, reduksi nitrat, dan hipersensitif tembakau. Untuk uji fisiologi yang menghasilkan reaksi positif adalah uji gram, katalase, oksidatif, fluorescens, levan sukrosa, pembusukan kentang dan pencairan gelatin, bakteri dapat tumbuh pada suhu 4^oC, 11^oC, 25^oC, 30^oC, 37^oC dan bakteri tidak tumbuh pada suhu 41^oC, uji hidrolisis argini menghasilkan reaksi + serta pada uji YDCA bakteri berwarna krem. Hasil uji tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Fisiologis Bakteri Isolat Ar 1, Aj.1 dan Tg. 1 dibandingkan dengan Karakteristik dari Palleroni (1984), Stolp dan Gadkari (1981) serta Lelliot dan Stead (1987).

Sifat- sifat Morfologi dan fisiologi	Hasil Uji Isolat			Hasil Uji <i>P. fluorescens</i> menurut :		
	Ar. 1	Aj. 1	Tg. 1	Palleroni (1984)	Stolp dan Gadkari (1981)	Lelliot dan Stead (1987)
1. Gram	-	-	-	-	-	-
2. Katalase	+	+	+	-	+	-
3. Oksidatif – fermentatif	O	O	O	-	O	-
4. Fluorescens	+	+	+	+	+	-
5. Hidrolisis pati	-	-	-	-	-	-
6. Reduksi nitrat	-	-	-	-	-	-
7. Pembentukan indol	-	-	-	-	-	-
8. Levan sukrosa	+	+	+	+	-	-
9. Pembusukan kentang	+	+	+	-	-	+
10. Pencairan gelatin	+	+	+	+	-	-
11. Hipersensitif tembakau	-	-	-	-	-	-
12. YDCA	krem	krem	krem	-	krem	-
13. Pertumbuhan pada suhu :						
4 ^o C	+	+	+	-	-	-
11 ^o C	++	++	++	-	-	-
25 ^o C	+++	+++	+++	-	-	-
30 ^o C	+++	+++	+++	+	-	-
37 ^o C	+++	+++	+++	+	-	-
41 ^o C	-	-	-	-	-	-
14. Hidrolisis Arginin	-	-	-	-	-	-

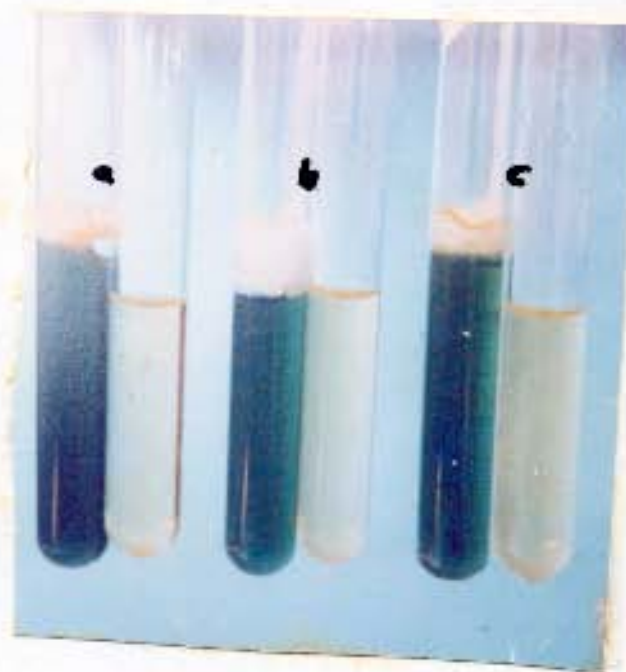
Pada pengujian gram dengan menggunakan KOH 3% ketiga isolat bakteri tersebut bereaksi positif sehingga bakteri tersebut bersifat gram negatif hal ini ditandai dengan terbentuknya lendir yang ikut terangkat lebih dari 1 cm oleh jarum ose (Fahy dan Hayward, 1983).

Isolat bakteri bereaksi positif pada uji katalase yang dibuktikan dengan timbulnya gelembung- gelembung udara pada 3% H₂O₂ setelah dicampur dengan biakan bakteri. Stolp dan Gadkari (1981) menunjukkan bahwa bakteri bereaksi positif



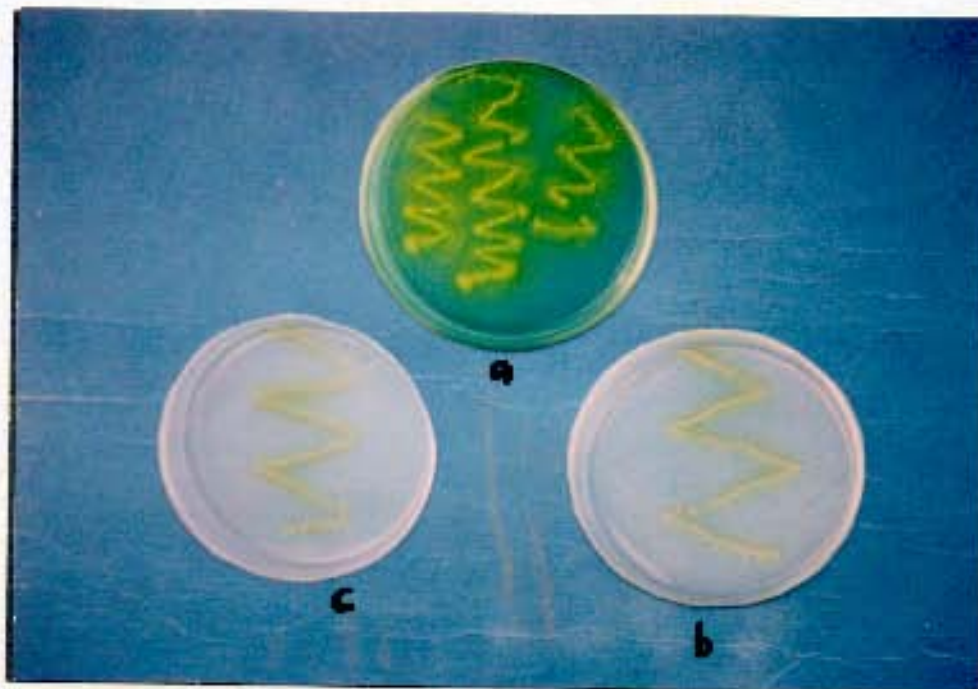
pada uji katalase. Menurut Seeley dan Denmark (1971) timbulnya gelembung-gelembung udara pada uji katalase membuktikan bahwa bakteri menghasilkan enzim katalase sehingga mampu mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen.

Isolat bakteri terbukti bereaksi positif pada uji oksidatif dan bereaksi negatif pada uji fermentatif. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna hijau menjadi kuning yang dimulai dari permukaan media yang tidak tertutup minyak parafin setelah masa inkubasi 7-14 hari. Hasil uji tersebut sesuai dengan deskripsi Stolp dan Gadkari (1981) bahwa bakteri membutuhkan oksigen untuk tumbuh dan memproduksi asam dalam kondisi aerob, sehingga bakteri termasuk dalam golongan bakteri aerobik (Fahy dan Hayward, 1983). Menurut Palleroni (1984) bahwa sifat genus *Pseudomonas* merupakan bakteri kemoorganotrofik, sangat aerob, dan metabolisme melalui respirasi tidak pernah fermentatif. Hasil uji oksidatif-fermentatif disajikan pada Gambar 4.



Gambar 4. Hasil Uji Oksidatif-Fermentatif
Isolat *Pseudomonad* Fluoresens
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1.

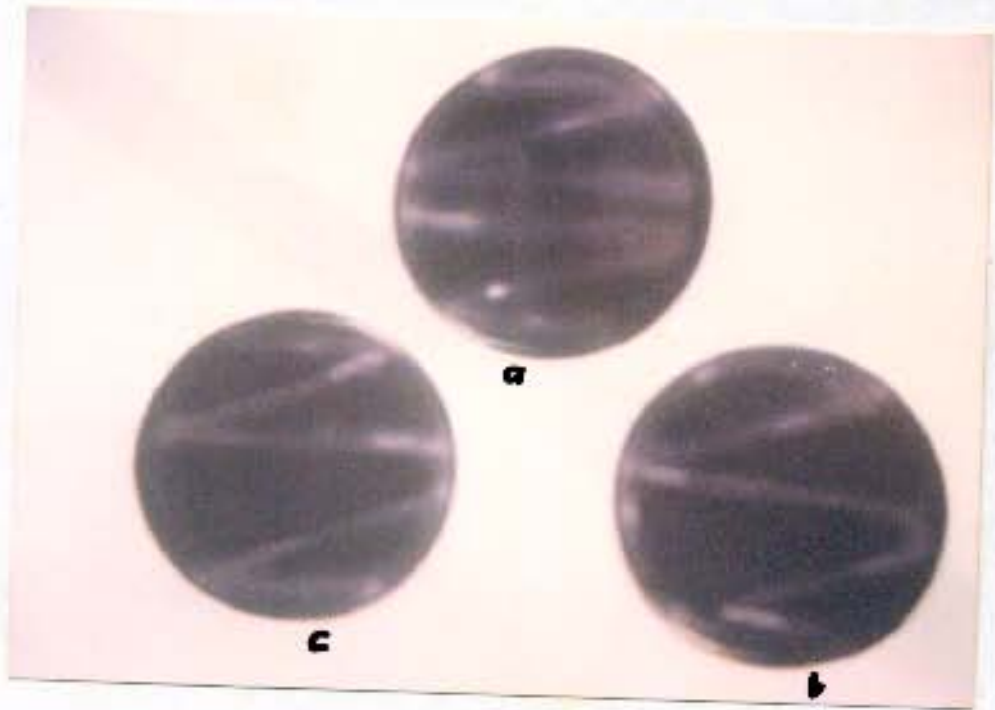
Isolat bakteri menunjukkan reaksi positif pada uji fluoresens. Reaksi positif tersebut karena pada media King' B ketiga isolat bakteri mengeluarkan warna hijau yang mengkilap dan berpendar pada saat bakteri disinari lampu ultraviolet. Menurut Stolp dan Gadkari (1981) serta Palleroni (1984) bakteri *Pseudomonas* bereaksi positif pada uji fluoresens. Lelliot dan Stead (1987) menyatakan bahwa adanya pigmen fluoresens setelah bakteri *Pseudomonas* diuji pada medium king's B menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri tersebut adalah bakteri *Pseudomonas* kelompok fluoresens (*Pseudomonad fluoresens*). Hasil uji fluoresens dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil Uji Fluoresens Bakteri *Pseudomonad Fluoresens* pada Media King's B
A= Ar.1, B= Aj. 1, C= Tg. 1.

Pada uji hidrolisis pati, ketiga Isolat bakteri menunjukkan reaksi negatif yang dicirikan dengan warna hitam pada arca yang ditumbuhi bakteri setelah ditetesi reagen iodium pati. Hal ini sesuai dengan pendapat Palleroni (1984) serta Stolp dan

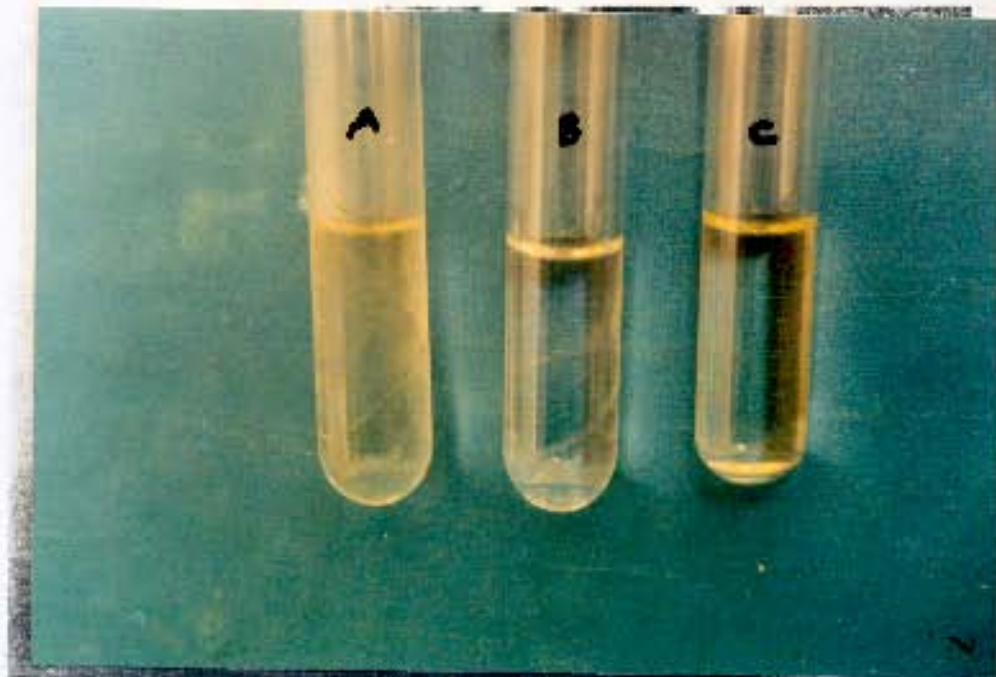
Gadkari (1981) yang menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonas* bereaksi negatif pada uji hidrolisis pati. Menurut Hadioetomo (1983) reaksi negatif tersebut menunjukkan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim amilase yang dapat menghidrolisis pati menjadi maltosa dan glukosa. Hasil uji hidrolisis pati disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil Uji Hidrolisis Pati pada Isolat Bakteri *Pseudomonad Fluoresens*
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1.

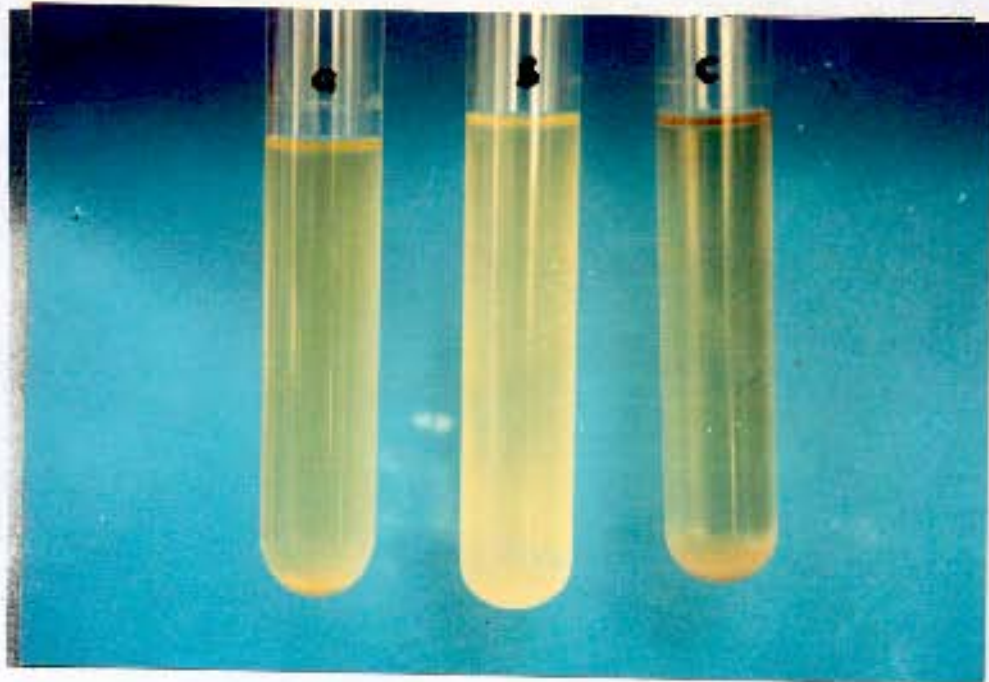
Pada pengujian reduksi nitrat, ketiga isolat bakteri bersifat negatif. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya warna biru pada isolat bakteri setelah ditetesi dengan iodin pati (larutan A + larutan B), isolat bakteri terbukti bereaksi negatif sesuai dengan *Pseudomonas* yang diidentifikasi Lelliot dan Stead (1987) yang menyatakan bahwa tidak terbentuknya warna biru pada medium setelah ditetesi dengan iodin pati (larutan A + larutan B) menunjukkan bahwa bakteri tidak mampu

mereduksi nitrat menjadi nitrit dan tidak memproduksi gas dari nitrat melalui proses denitrifikasi. Hasil uji reduksi nitrat disajikan pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil Uji Reduksi Nitrat pada Isolat Bakteri *Pseudomonad Fluoresens*
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1.

Reaksi negatif ditunjukkan isolat bakteri pada uji pembentukan indol (Gambar 8) dengan tidak terbentuknya lapisan merah pada permukaan media setelah ditetesi reagen kovacs. Hal ini sesuai dengan identifikasi Lelliot dan Stead (1987) yang menunjukkan bahwa bakteri bereaksi negatif pada uji indol. Menurut Alcano (1983) reaksi negatif pada pembentukan indol tersebut berarti bakteri tidak menghasilkan enzim triptofan sehingga tidak mampu menghidrolisis asam amino triptofan menjadi indol dan asam piruvat. Palleroni (1981) menyatakan bahwa bakteri *Pseudomonad* tidak pernah memproduksi indol dari enzim triptofan yang berarti pula bahwa bakteri adalah dari genus *Pseudomonas*.

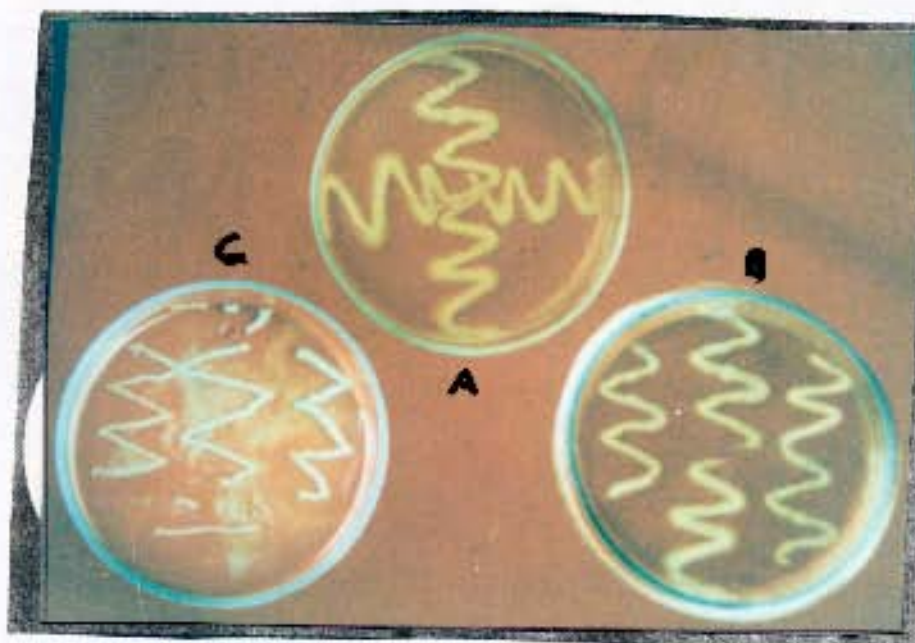


Gambar 8. Hasil Uji Pembentukan Indol pada Isolat Bakteri
Pseudomonas fluorescens
 A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1

Isolat bakteri menunjukkan reaksi positif pada uji pembentukan levan yang dicirikan dengan koloni yang tampak mengkilat, berlendir dan cembung (Fahy dan Hayward, 1983) (Gambar 9). Hasil tersebut sesuai dengan identifikasi Palleroni (1984). Dwidjoseputro (1990) menyatakan bahwa adanya aktivitas enzim levan sukrosa yang dihasilkan oleh bakteri menyebabkan bakteri mampu mengubah sukrosa menjadi glukosa dan fruktosa. Menurut Fahy dan Hayward (1983) serta Lelliot dan Stead (1987) koloni yang semula tampak transparan akan menjadi buram setelah 2-3 hari dan mencair pada biakan tua. Menurut Palleroni (1981) Bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang mampu memproduksi levan sukrosa adalah *Pseudomonas fluorescens*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens*, sedangkan *P. aeruginosa* dan



P. putida tidak mampu memproduksi levan dari sukrosa. Uji pembentukan levan sering digunakan untuk membedakan *biotipe-biotipe* dari *P. fluorescens*.



Gambar 9. Hasil Uji Pembentukan Levan Sukrosa pada Isolat Bakteri *Pseudomonas fluorescens*
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1

Pada pengujian gelatin, ketiga isolat bakteri bereaksi positif. Hal ini ditandai dengan tetap mencairnya (tidak membeku) tabung gelatin yang telah dinokulasi bakteri, setelah disimpan dalam lemari pendingin suhu 5°C selama 2 jam. Palleroni (1984) serta Lay (1994) menyatakan bahwa reaksi positif menunjukkan bahwa bakteri mampu mencerna gelatin. Menurut hasil penelitian den Dooren de Jong (1926 dalam Palleroni, 1981), salah satu bakteri yang termasuk dalam *Pseudomonas fluorescens* yaitu *P. putida* merupakan spesies *fluorescens* yang tidak mempunyai kemampuan untuk memecah gelatin, sedangkan *Pseudomonas fluorescens* mempunyai kemampuan untuk memecah gelatin.

Isolat bakteri terbukti menunjukkan reaksi positif pada uji pembusukan kentang, yang ditunjukkan dari bekas goresan kentang yang membusuk dan berwarna kehitaman (Gambar 10). Menurut Lelliot dan Stead (1987) bakteri bereaksi positif pada uji pembusukan kentang yang berarti telah terjadi aktivitas pektolitik oleh bakteri.



Gambar 10. Hasil Uji Pembusukan Kentang pada Isolat Bakteri *Pseudomonas Fluorescens*
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1

Pada uji YDCA, ketiga isolat bakteri yang diuji selama tujuh hari pada media YDCA menunjukkan warna koloni krem. Menurut Stolp dan Gadkari (1981), bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang ditumbuhkan pada media YDCA akan menunjukkan warna koloni yang berbeda-beda yaitu *Pseudomonas fluorescens* menghasilkan warna koloni krem, *P. chlororaphis* menghasilkan warna hijau dan *P. aureofaciens* menghasilkan koloni oranye merah sedangkan menurut Palleroni (1981) *P. aeruginosa* yang ditumbuhkan pada media YDCA akan menghasilkan warna koloni biru kehijauan. Hasil uji YDCA dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Hasil Uji YDCA pada Isolat Bakteri
Pseudomonad Fluorescens
A= Ar. 1, B= Aj. 1, C= Tg. 1

Isolat bakteri juga menunjukkan reaksi negatif pada uji hipersensitif tembakau sesuai dengan diskripsi Lelliot dan Stead (1987) yang menyatakan bahwa reaksi negatif ditunjukkan dengan tidak munculnya gejala nekrotik setelah diinokulasi secara suntikan dengan suspensi bakteri dalam waktu tujuh hari (Gambar 12). Hal ini menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri tersebut bukan merupakan bakteri patogen tumbuhan tetapi bakteri saprofit.



Gambar 12. Hasil Uji Hipersesitif Tembakau pada Isolat Bakteri
Pseudomonad Fluoresens
A= Kontrol, B= Ar. 1, C= Aj. 1, D= Tg. 1

Pada pengujian suhu, terlihat bahwa ketiga isolat bakteri tersebut mampu tumbuh baik pada suhu optimum 25°C , 30°C , 37°C yang diindikasikan dengan tingginya tingkat kekeruhan pada media nutrient broth. Pada suhu 4°C dan 11°C , media nutrient broth terlihat agak keruh, hal ini menunjukkan bahwa bakteri masih mampu tumbuh walaupun tidak optimal. Pada media *nutrient broth* yang disimpan pada suhu 41°C masih terlihat jernih, ini menunjukkan pada suhu tersebut bakteri sudah tidak mampu tumbuh. Menurut Palleroni (1984) suhu optimum untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonad fluoresens* 25°C - 30°C yaitu bakteri *P. fluorescens*, *P. putida*, tetapi ketiga isolat bakteri yang diuji mempunyai suhu optimum 25°C - 37°C . Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh adanya perbedaan faktor lingkungan antara tempat penelitian asal peneliti sebelumnya dengan tempat

penelitian di Laboratorium Ilmu Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Jember. Suhu optimum untuk bakteri *P. aeruginosa* adalah 37°C , bakteri ini mampu bertahan hidup pada suhu 41°C , sedang suhu optimum untuk bakteri *P. chlororaphis* dan *P. aerofaciens* adalah -30°C .

Reaksi bakteri bereaksi positif terhadap hidrolisis arginin, bila terjadi perubahan warna pada media yang mengandung arginin dari warna merah tua menjadi orange. Menurut Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Buchanan dan Gibbon, 1974) kelompok *Pseudomonas fluorescens* bereaksi positif terhadap hidrolisis arginin, diantaranya *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *P. aeruginosa*, *P. chlororaphis* dan *P. cichorii* dan kelompok ini bersifat fitopatogen. Hasil uji terlihat pada Gambar 13.

Gambar 13. Hasil Uji Hidrolisis Arginin Pada Isolat
Pseudomonad Fluorescens
A = Kontrol, B = Ar. I, C = Aj. I, D = Tg. I

Berdasarkan hasil uji fisiologis bakteri (Tabel 1) tersebut, maka isolat bakteri Ar. 1, Aj. 1, Tg. 1 adalah bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

4.3 Hasil Pengujian Antagonisme Secara *In vitro*

Hasil uji *in vitro* terhadap pertumbuhan koloni jamur *R. solani* dan kontrol dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata Diameter Koloni (mm) *R. solani* pada Pengujian Antagonisme *In vitro*.

Perlakuan	Diameter Koloni (mm) Hari Ke-						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
1. Kontrol	0	22,8	28,6	38,7	49,2	66,3	86,0
2. Ar. 1	0	6,9	9,5	13,4	16,2	18,6	21,7
3. Aj. 1	0	3,7	5,3	7,3	10,8	12,9	17,6
4. Tg. 1	0	5,3	7,7	10,0	13,2	16,7	19,6

Tabel 3. Menunjukkan bahwa semua isolat antagonis yang digunakan ternyata mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*. Penghambatan tersebut terjadi mulai pada hari ke- 2 setelah inokulasi. Pada pengamatan hari ke-7 (hsi) rata-rata pertumbuhan jamur *R. solani* pada ketiga isolat perlakuan, bakteri antagonis mencapai 19,64 mm, sedangkan pada kontrol pertumbuhannya dapat mencapai 86 mm.

Berdasarkan data Tabel 3 dapat diketahui besarnya persentase penghambatan masing-masing antagonis terhadap pertumbuhan *R. solani*. Data tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Rata-rata Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Terhadap *R. solani*

Perlakuan	Penghambatan Pertumbuhan Koloni (%) Hari Ke- (hsi)						
	I	II	III	IV	V	VI	VII
1. Kontrol	0 a	0 c	0 c	0 c	0 b	0 b	0 b
2. Ar. 1	0 a	69,7 b	66,7 b	66,3 b	66,9 a	71,9 a	73,6 a
3. Aj. 1	0 a	83,6 a	81,2 a	81,0 a	77,7 a	80,5 a	77,8 a
4. Tg. 1	0 a	76,7 ab	72,9 ab	74,1 ab	72,9 a	74,8 a	77,1 a

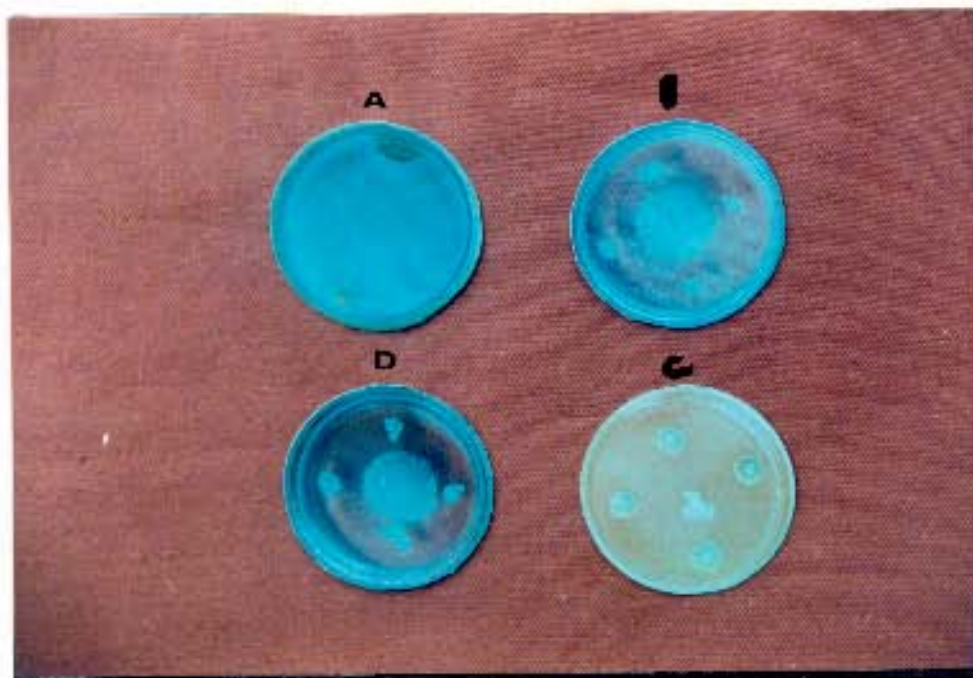
Angka pada satu kolom diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan beda tidak nyata (uji Duncan 5%).

Pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semua isolat antagonis *P. fluorescens* mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*. Namun antar perlakuan menunjukkan berbeda tidak nyata dan berbeda nyata dengan kontrol. Data pengamatan hari ke 7 (hsi) persentase penghambatan oleh bakteri *P. fluorescens* mencapai 73,6 (Ar. 1), 77,8 (Aj.1), dan 77,1 (Tg.1). Kemampuan bakteri *P. fluorescens* dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* tersebut diduga akibat dari senyawa antibiotik, siderofor, dan substansi folatil (Gambar 13).

Menurut Misaghi *et al.* (1982) aktivitas *P. fluorescens* menghambat pertumbuhan berbagai jamur pada berbagai media biakan, disebabkan oleh kemampuannya untuk mengambil unsur besi (Fe^{3+}) dari media dengan membentuk kompleks besi-pigmen. Pigmen yang dihasilkan bakteri lebih memperlihatkan sifat fungistatik. Weller (1988) menyatakan bahwa kemampuan *P. fluorescens* mengambil unsur besi (Fe^{3+}) dari media memacu terbentuknya siderofor dan antibiotik yang sangat berperan dalam menekan pertumbuhan patogen, terutama golongan jamur. Peran senyawa tersebut ditentukan oleh faktor-faktor lingkungan yang dapat mempengaruhi produktivitas bakteri dalam menghasilkan siderofor dan antibiotik (Mulya, 1997). Pada kontrol tidak terjadi penghambatan (0%), hal ini terjadi karena

pada kontrol tidak mendapat penghambatan *P. fluorescens* sehingga pertumbuhan koloni *R. solani* tidak terhambat oleh antibiotik yang dikeluarkan *P. fluorescens*.

Kemampuan bakteri antagonis dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* pada pengujian secara *in vitro* membuktikan bahwa bakteri tersebut mempunyai potensi untuk digunakan sebagai agensia hayati dalam mengendalikan penyakit rhizoctonia yang disebabkan oleh jamur *R. solani*.



Gambar 14. Penghambatan *P. fluorescens* Terhadap *R. solani* pada Media PDA

A = Kontrol, B = Ar. 1, C = Aj. 1, D = Tg. 1





V. Kesimpulan Dan Saran

5.1 Kesimpulan.

Berdasarkan pengujian sifat fisiologis serta hasil dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa bakteri isolat Ar. 1, Aj. 1, dan Tg. 1 adalah bakteri *P. fluorescens*. Ketiga isolat *P. fluorescens* tersebut mempunyai potensi untuk menghambat perkembangan koloni *R. solani* secara *in vitro*, dan persentase penghambatan *P. fluorescens* tertinggi yaitu isolat Aj. 1, sebesar 77,76%.

5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui efektivitas *P. fluorescens* isolat Ar. 1, Aj. 1, dan Tg. 1 dalam menekan pertumbuhan *R. solani* pada pertanaman kedelai secara *in vivo* di lapang.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1975. *Compedium of Soybean Diseases*. The American Phytopathology Society. Inc. 69 p.
- . 1990. *Petunjuk Bergambar Untuk Identifikasi Hama dan Penyakit Kedelai di Indonesia*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 115 p.
- . 1992. *Penyakit Utama Kedelai*. Media Pestisida. Jakarta. VIII. (3) : 24 p.
- . 1993. *Kedelai*. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 509 p.
- . 1995. *Risalah Seminar Penelitian Tanaman Pangan Tahun 1994*. Balai Penelitian tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian. Malang. 262-269 p.
- . 1998. Perbaikan komponen teknologi untuk meningkatkan produktivitas tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian. *Laporan Penelitian*. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang. 261-269 p.
- . 1999. *Perbaikan Komponen dan Teknologi untuk Peningkatan Produktivitas Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Balai Penelitian Tanaman Kacang-kacangan dan Umbi-umbian. Malang. 361-368 p.
- . 2001. Peran fitopatologi dalam pengelolaan kesehatan tanaman untuk mendukung otonomi daerah di sektor agribisnis. dalam *Mukalah Regional V; Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*. Komda Jawa Tengah dan D.I. Yogyakarta. Yogyakarta. 2-6 p.
- Abadi, A.L. 1987. Biologi *Ganoderma bininense pat.* pada kelapa sawit (*Elais guinensis jacg*) dan pengaruh beberapa mikroba tanah antagonistik terhadap pertumbuhannya. *Disertasi* Fakultas Pasca Sarjana. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 147 p.
- Agrios, G.N. 1996. *Penyakit Tumbuhan*. Terjemahan. Busnia dari Plant Pathology (1988). Gadjah Mada University Press. Yogyakarta. 103 p.
- Alcano, I. E. 1983. *Laboratory Fundamentals of Microbiology*. Adison-wesley Publising Company. New-York. 110 p.

- Alexopoulos, C. J. and C. W. Mims. 1979. *Introductory Mycology Third edition*. John Wiley and Sons, Inc. New York - Chichester - Brisbane - Toronto - Singapore. 632 p.
- Arwiyanto, I. 1997. Pengendalian hayati penyakit layu bakteri tembakau : isolat bakteri antagonis. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia; (Vol3)*. 54-60 p.
- Chet, I and R. Baker. 1980. Induction of suppressiveness to *R. solani* in soil. *Phytopathology* 70 : 994-998 p.
- Cook, R. J. 1991. Biological control of plant disease. In : J. Bay – Petersen (ed). *The Biological Control of Plant Disease*. FFIC Book Series No. 42. Tsukuba. Japan. 1-39 p.
- Djarmika, I. 1998. Pengaruh *Pseudomonas fluorescens Migula* terhadap patogenesitas *Fusarium oxysporum* Schlecht pada tanaman krisan. *Jurnal Hort* 8 (1). 1014-1020 p.
- Domsch, K. H., W. Gams., T. H. Anderson. 1980. *Compendium of Soil Pathogen*. Acad Press. London 800 p.
- Dwidjoseputro, D. 1990. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan Jakarta. 214 p
- Fahy P. C., and A. C. Haywarad. 1983. *Media and Methods for Isolation Diagnostic Test*. Dalam P. C. Fahy and G. J. Persley eds. *Plant Bacterial Diseases : A Diagnostic Guide* Sidney Australia : Accademic Press 337-378 p.
- Frobisher, 1962, *Fundamental of Mikrobiologi*, W. B. Saunders Company, Philedelphia, London. 45-56 p.
- Gurusiddaiah, S., D. M. Weller., A. Sarkur and R. J. Cook. 1986. Characterization of an Antibiotic Produced by a Strain of *Pseudomonas fluorescens* Inhibitory to *Gaeumannomyces graminis* var. *Triticici* and *Pythium spp* Antimicrobial Agents and Chemotherapu; 29 : 488-495 p.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta. 50 p.
- Howell, G. R. 1982. Effect *Gliocladium Phythium ultimum*, *R. solani* damping-off cotton seedlings. *Phytopathology*; 72 : 496-498 p.
- Kataria, H. R and R. K. Grover. 1987. Influence of soil factors, fertilizers and manures on pathogenicity of *R. solani* on vigna species. *Plant and Soil*; 3 : 57-66 p.

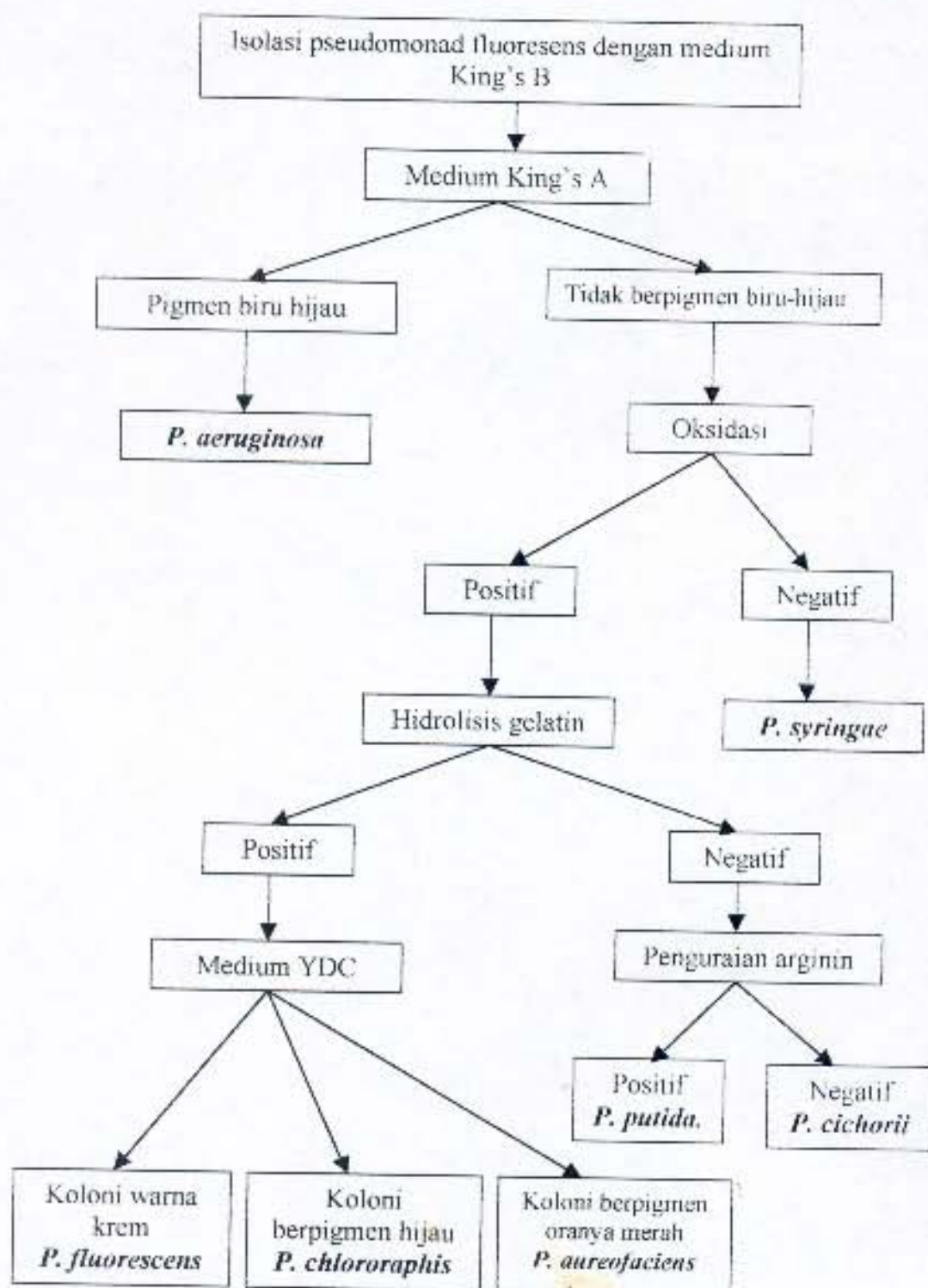
- Kim, D. H and I. J. Misaghi. 1996. Biocontrol performance of two isolat of *Pseudomonas fluorescens* in modified soil atmospheres. *Phytopathology*; 86 : 1239-1259 p.
- Klement, Z., A. Mauridis., K. Rudolph and A. Vivader. 1990. *Inoculation of Plant Tissues in Methods in Phyto-bacteriology*. Z. Klement, K. Rudolph and D. C. Sands (eds). Akademiai Kiado. Budapest. 101-102 p.
- Kurniawan, R. H. 1996. Uji Potensi Mikroba Filosfir Cabai (*Capsicum annuum* L.) Terhadap *Colletotrichum capsici* (SYD) BUTL. et. BisBy Penyebab Penyakit Antraknosa. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 5-23 p.
- Leisinger, T and R. Margraff. 1979. Secondary metabolites of the *Pseudomonad fluorescens*. *Microbiological reviews*; 43 : 422-442 p.
- Lakitan, B. 1995. *Hortikultura (Teori, Budidaya dan Pasca Panen)*. Raja Grafindo Persada. Jakarta. 219 p.
- Lay, B. W., 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada Jakarta. 52-64 p.
- Lelliot, R. A and D. E. Stead. 1987. *Methods for Diagnosis of Bacterial Diseases on Plant*. 2nd, Ed. Blackwellscientific Publication-Oxford.
- Lindow., E. Steven and R. Elkins. 1996. Interactions of antibiotics with *Pseudomonas fluorescens* strain A 506 in the control of fire blight and frost injury to pear. *Phytopathology* 86 : 841-848 p.
- Liu, L. 1995. Introduction of systemic resistance in cucumber by plant growth promoting rhizobacteria : Duration of Protection and Effect of Host Resistance on protection and root colonization. *Phytopath; (Vol. 85)*. 1 : 1064 p.
- Misaghi, I. J., L. J. Stowell, R. G. Grogan, and L. C. Spearman. 1982. Fungistatic activity of water - soluble fluorescens pigments of fluorescent pseudomonad. *Phytopathology* 72 : 33-36 p.
- Mudjiono, G. 1992. Dasar-dasar pengendalian hama terpadu. *Makalah Seminar Regional Sehari Ikatan Mahasiswa Hama dan Penyakit Tumbuhan Universitas Jember*. Jember. 25 p.
- Mulya, K. 1997. Penekanan perkembangan penyakit layu bakteri tomat oleh *Pseudomonas fluorescens* PFG32. *Jurnal Hort* 7 (2) 685-691 p.

- Oedjono. 1994. Isolasi dan deteksi metabolit sekunder *Pseudomonas fluorescens* yang menghambat pertumbuhan mikroba patogen. *Laporan Penelitian*. Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Purwokerto. 38 p.
- Palleroni, N. J. 1981. *Introduction to the Family Pseudomonadaceae*. In the *Prokaryotes A. Handbook on Habitat, Isolation, and Identification of Bacteria*. Phytopathogenic Bacteria, M. P. Starr (eds). University of California. New York. 655-660 p.
- . 1984. *Pseudomonad* in *Bergey's manual of systematic bacteriology*, N. R. Krieg and Y. G. Holt (eds) (Vol 1). University of California. New York. 141-199 p.
- Papavizas, G. C. 1970. Colonization and growth of *R. solani*, p. 108-122. In *Parmeter, J. R., JR. (ed) R. solani, Biology and Pathology* University of California Press. Berkeley.
- Raaljmakers, M., M. Leeman, M. M. P. Oorschot, I. V. Sluis, B. Schipper and P. A. H. M. Backer. 1995. Dose relationship in biological control of *Fusarium* wilt of radish by *Pseudomonas* sp. *Phytopath*; (Vol. 85). 10 : 1075 p.
- Rodriguez, F and W. F. Pfender. 1997. Antibiosis and antagonism of sclerotinia *Homoeocarpa* and *Dreschlera Poal* by *Pseudomonas fluorescens* Pf-5 *in vitro* and *in planta*. *Phytopathology* 87 : 614-621p.
- Rukmana, R. 1996. *Kedelai Budidaya dan Pasca Panen*. Kanisius, Yogyakarta. 11-92 p.
- Rukmana, R dan Yuniarsih. 1996. *Penyakit Tanaman dan Teknik Pengendalian*. Kanisius. Yogyakarta. 96 p.
- Sands, D. C. 1990. Physiological criteria determinate test in Klemen, Z., K. Rudolph and D. C. sand (ed). *Methods in Phytobacteriology* : 33-43. Akademiai Kiado. Budapest.
- Sandra, S. L. 1985. *Research Techniques In Crops PCARRD*. Los Banos Laguna. Philipines. 512 p.
- Seley, H. W and P. J. V. Denmark. 1971. *Selected Exercises from Microbes in Action*. W. H. Freeman and Company. Sanfrancisco and London 167 p.
- Semangun, H. 1993. *Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. 449 p.

- Shurtleff, 1980. Compendium of corn diseases. *The Amer Phytopathological Soc.* Urbana. 105 p.
- Sinaga, M. S. 1994. Potensi *Gliocladium* spp sebagai agen pengendalian hayati beberapa cendawan patogenik yang bersifat soil borne. *Makalah disampaikan dalam Seminar Hasil Penelitian.* Staf Pengajar Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor. 6 p.
- Sinaga, M. S. 1997. *Agen Antagonis dari Penyebab Penyakit pada Tanaman Cabai Merah.* Departemen Pertanian Direktorat Bina Perlindungan Pedoman Tanaman Pangan dan Hortikultura. Bogor. 28 p.
- Stolp, H and D. Gadkari. 1981. Nonpathogenic members of the genus *Pseudomonas*. In the prokaryotes a hand book on habitats, isolation, and identification of bacteria : *Phytopathogenic Bacteria*, M. P. Starr (eds). University of California. New york. 723-729 p.
- Sudjono, S. M., M. Amir dan R. Martoatmodjo. 1993. *Penyakit Kedelai dan Penanggulangannya.* BP3 Puslitbang Tanaman Pangan. Bogor. 509 p.
- Suslow. 1978. Control of *R. solani* on Cotton seedlings with *Pseudomonas fluorescens* and with an antibiotic produced by the bacterium. *Phytopathology*, 69 : 480-482 p.
- Wakimoto. 1991. Production of antibiotics by plant pathogenic pseudomonad. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 52 : (5) 835-842p.
- Weller, D. M. 1988. Biological control of soil borne plant pathogens in the rhizosphere with bacteria. *Annual Review of Phytopathology* 26 : 379-407 p.
- Widiyastuti, D. R dan T. Arwiyanto. 2001. Pencirian *Pseudomonad fluorescens*, agensia pengendalian hayati layu bakteri. Dalam *Makalah Seminar Regional V; Perhimpunaan Fitopatologi Indonesia.* Komda Jawa Tengah dan D. I. Yogyakarta. Yogyakarta. 2-6 p.
- Wilson, C. L and P. A. Backman. 1997. Biological Control of Plant Pathogens, In *Handbook of Pest Management.* Ruberson, J. R. ed. Marcell Dekker. New York.

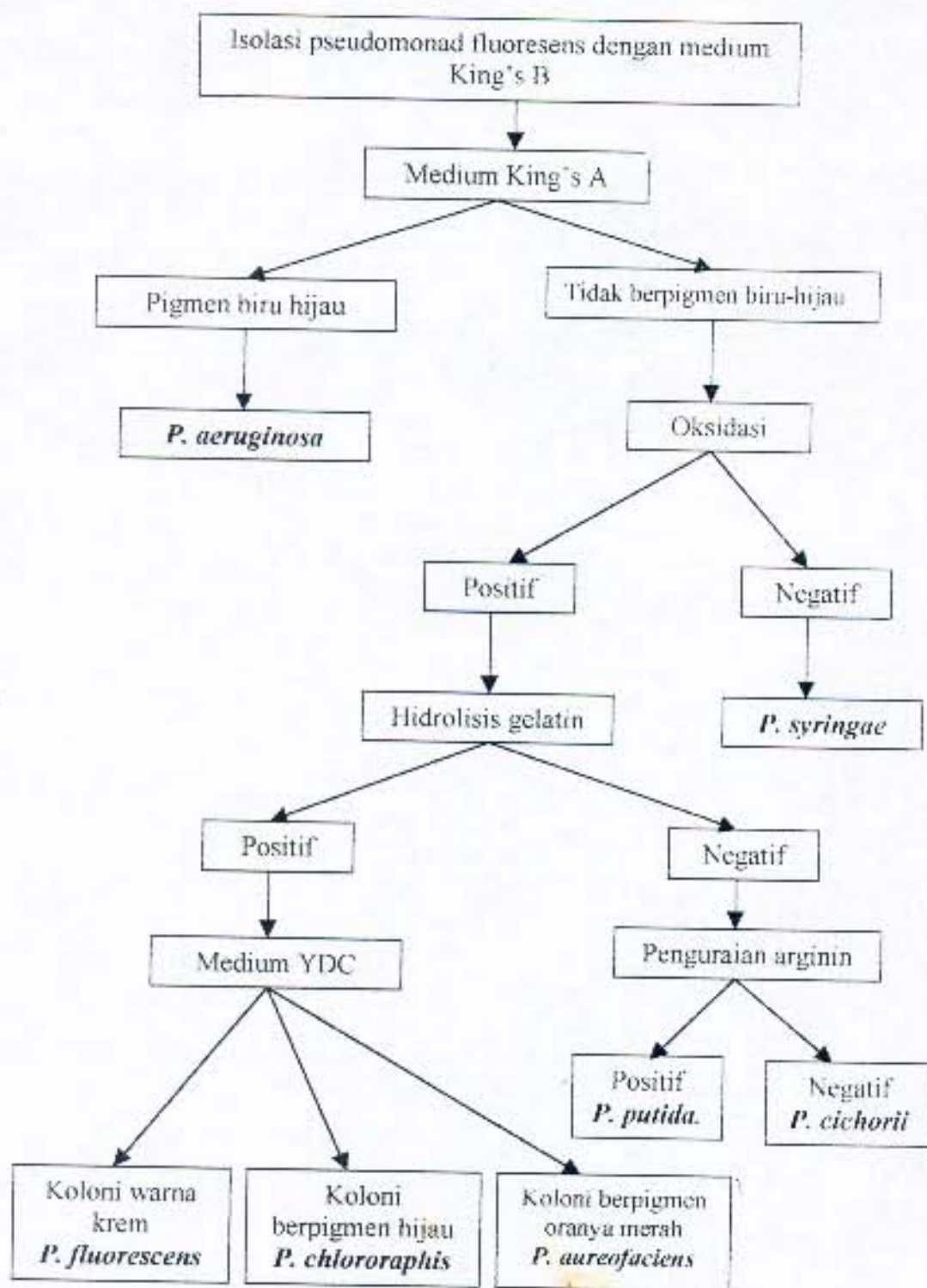
LAMPIRAN

Lampiran 1: Bagan Isolasi Pseudomonad Floresens (Stolp dan Gadkari, 1981)



LAMPIRAN

Lampiran 1: Bagan Isolasi Pseudomonad Floresens (Stolp dan Gadkari, 1981)



Lampiran 2. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-2

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	1174,03750	391,34583	189,170191 **	3,24	5,29
Galat	16	33,10000	2,06875			
Total	19	1207,13750				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 14,866%

Lampiran 3. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-3

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	1713,93750	571,31250	179,840945 **	3,24	5,29
Galat	16	50,80000	3,17500			
Total	19	1764,73750				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 13,948%

Lampiran 4. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-4

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	3132,25000	1044,08333	198,165283 **	3,24	5,29
Galat	16	84,30000	5,26875			
Total	19	3216,55000				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 13,230%

Lampiran 5. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-5

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	4879,35000	1626,45000	137,907790 **	3,24	5,29
Galat	16	188,70000	11,79375			
Total	19	5068,05000				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 15,366%

Lampiran 6. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-6

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	9546,93750	3182,31250	260,445013 **	3,24	5,29
Galat	16	195,50000	12,21875			
Total	19	9742,43750				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
cv = 12,211%

Lampiran 7. Sidik Ragam Diameter Koloni Jamur *R. solani* Pengamatan Hari Ke-7

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	16555,71400	5518,57133	273,460585 **	3,24	5,29
Galat	16	322,88800	20,18050			
Total	19	16878,60200				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
cv = 12,399%

Lampiran 8. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-2

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	22510,42550	7503,47517	202,032180 **	3,24	5,29
Galat	16	594,24000	37,14000			
Total	19	23104,66550				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
cv = 10,601%

Lampiran 9. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-3

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	20844,20200	6948,06733	175,562647 **	3,24	5,29
Galat	16	633,21600	39,57600			
Total	19	21477,41800				

Keterangan: ** Berbeda sangat nyata
cv = 11,395%

Tabel hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Ranking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
Pf2	81,16	1	3,23	12,85134	a
Pf3	72,94	2	3,15	12,53304	ab
Pf1	66,74	3	3	11,93623	b
Kontrol	0	4			c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Lampiran 10. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-4

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	20857,54400	6952,51467	196,914647 **	3,24	5,29
Galat	16	564,91600	35,30725			
Total	19	21422,46000				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 10,784%

Tabel hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Ranking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
Pf2	81	1	3,23	12,13848	a
Pf3	74,08	2	3,15	11,83784	ab
Pf1	65,32	3	3	11,27413	b
Kontrol	0	4			c

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Lampiran 11. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-5

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	20013,65800	6671,21933	128,614215 **	3,24	5,29
Galat	16	829,92000	51,87000			
Total	19	20843,57800				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 13,242%

Tabel hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Ranking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
Pf2	77,7	1	3,23	14,71264	a
Pf3	72,94	2	3,15	14,34824	a
Pf1	66,92	3	3	13,66499	a
Kontrol	0	4			b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Lampiran 12. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-6

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	21697,24950	7232,41650	268,900553 **	3,24	5,29
Galat	16	430,34000	26,89625			
Total	19	22127,58950				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv 9.131%

Tabel hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Ranking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
Pf2	80,52	1	3,23	10,59445	a
Pf3	74,76	2	3,15	10,33205	a
Pf1	71,9	3	3	9,840046	a
Kontrol	0	4			b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Lampiran 13. Sidik Ragam Persentase Penghambatan *P. fluorescens* Pengamatan Hari Ke-7

Sumber Keragaman	dB	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F-hitung	F-tabel	
					5%	1%
Perlakuan	3	21790,88550	7263,62850	326,249933 **	3,24	5,29
Galat	16	356,22400	22,26400			
Total	19	22147,10950				

Keterangan : ** Berbeda sangat nyata
cv = 8,263%

Tabel hasil uji beda jarak berganda Duncan

Perlakuan	Rata-rata	Ranking	SSR 5%	DMRT 5%	Notasi
Pf2	77,76	1	3,23	9,639047	a
Pf3	77,1	2	3,15	9,400309	a
Pf1	73,56	3	3	8,952676	a
Kontrol	0	4			b

Keterangan : Huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada uji Duncan taraf 5%

Lampiran 14. Komposisi Bahan Medium Oksidatif Fermentatif

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Pepton	1.0 g
2	NH ₄ H ₂ PO ₄	1.0 g
3	KCl	0.2 g
4	MgSO ₄ . 7H ₂ O	0.2 g
5	Bromothymol Blue	0,08 g
6	Agar	1.0 g

Lampiran 15. Komposisi Bahan Medium King's B

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Protease Pepton (Difco)	20.0 g
2	K ₂ HPO ₄	1.5 g
3	MgSO ₄ . 7H ₂ O	1.5 g
4	Agar	15.0 g
5	Gliserol	10.0 g

Lampiran 16. Komposisi Bahan Medium Hidrolisis Pati

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Agar	15.0 g
2	Pati	2.0 g
3	Pepton	5.0 g
4	Beef Extract	3.0 g

Lampiran 17. Komposisi Bahan Medium Pengujian Indol

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Tripton	10 g
2	Aquades	1000 ml

Lampiran 18. Komposisi Bahan Reagen Kovacs

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Para dimethyl-amino benzaldehyde	5 g
2	Amil alkohol/butil alkohol	75 ml
3	HCL pekat (37%)	25 ml

Lampiran 19. Komposisi Bahan Medium Levansukrose

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Pepton	5 g
2	Beef Extract	3 g
3	Glukose/ Sukrose	2,5 g / 5 %
4	Dextrose agar	15 g
5	Aquades	1000 ml

Lampiran 20. Komposisi Bahan Nutrient Agar

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Pepton	1,1 g
2	Beef Extract	2,0 g
3	Glukose	2,5 g
4	Agar	12,0 g
5	Sukrosa	5 % (w/v)

Lampiran 21. Komposisi Bahan Reagen A + B

N0	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Alpha namphtylamine	5 g
	H ₂ SO ₄	48 ml
	Aquadest	1000 ml
2	Asam sulfanilat	8 g
	H ₂ SO ₄	48 g
	Aquadest	1000 ml

Lampiran 22. Komposisi Bahan Medium Pencairan Gelatin

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Pepton	5,0 g
2	Yeast Extract	2,0 g
3	Agar	120,0 g

Lampiran 23. Komposisi Bahan Media YDCA

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Yeast Extract	10,0 g
2	Dekstroza (Glukosa)	20,0 g
3	Kalsium Karbonat (USP, Light Powder)	20,0 g
4	Agar	15,0 g

Lampiran 24. Komposisi Bahan Media Nutrient Broth

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Nutrient Broth	
2	Aguades	1000 ml

Lampiran 25. Komposisi Media Hidrolisis Arginin

No	Jenis/ Bahan	Jumlah
1	Pepton	1,0 g
2	NaCl	5,0 g
3	K ₂ HPO ₄	0,3 g
4	Penol Red	0,01 g
5	L - Arginin HCL	10,0 g
6	Agar	30,0 g
7	Aquadest	1000 ml

