



**VIABILITAS *Bacillus sp.* SEBAGAI AGEN ANTAGONIS PATOGEN
TANAMAN DALAM FORMULASI BERBAHAN DASAR TEPUNG**

SKRIPSI

Oleh :
Dhirham Khusma Fakhruddin
NIM 151510501205

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**VIABILITAS *Bacillus sp.* SEBAGAI AGEN ANTAGONIS PATOGEN
TANAMAN DALAM FORMULASI BERBAHAN DASAR TEPUNG**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh :
Dhirham Khusma Fakhruddin
NIM 151510501205

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur kehadirat Allah S.W.T yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulisan karya ilmiah skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar. Skripsi ini saya persembahkan untuk :

1. Kedua orang tua saya tercinta beserta kakak dan adik saya yang senantiasa mendukung saya baik secara moral, materil, kasih sayang, serta do'a yang diberikan sehingga menjadi sumber kekuatan bagi saya untuk menyelesaikan pendidikan sarjana pertanian.
2. Segenap Bapak dan Ibu guru TK sampai dengan SMA, serta segenap Dosen Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang selalu mengajarkan ilmu dan nasehat kepada saya dengan penuh kesabaran serta dedikasi yang tinggi.
3. Dosen Pembimbing Skripsi saya, Ibu Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti S.P., M.Sc., beserta Dosen Penguji saya Bapak Nanang Tri Haryadi S.P M.Sc., dan Bapak Ir. Abdul Majid, MP., yang selalu memberikan nasehat serta masukan kepada saya dengan penuh kesabaran, sehingga dapat menyelesaikan penulisan skripsi.
4. Almamater saya, Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember yang di cintai dan saya banggakan.

MOTTO

“TENANG, SANTAI, KUASAI”

(Gus John)

“Jangan Takut Untuk Bermimpi. Karena Mimpi Adalah Tempat Menanam Benih
Harapan Dan Memetakan Cita-Cita”

(Monkey D. Luffy)

“Historia Que Tú Hiciste, Historia Por Hacer Porque
Nadie Resiste Tus Ganas De Vencer”

(Hala Madrid Y Nada Mas)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Dhirham Khusma Fakhruddin

NIM : 151510501205

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “**Viabilitas *Bacillus sp.* Sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung**” adalah benar-benar hasil karya penulis sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada institusi manapun serta bukan karya tulis plagiasi. Saya bertanggung jawab 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 dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 15 Januari 2020

Yang menyatakan

Dhirham Khusma F
NIM.1515100501205

SKRIPSI

**Viabilitas *Bacillus sp.* Sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam
Formulasi Berbahan Dasar Tepung**

Oleh :

**Dhirham Khusma Fakhruddin
151510501205**

Pembimbing

Dosen Pembimbing Skripsi : Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti S.P., M.Sc.
NIP. 197303252003122002

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Viabilitas *Bacillus sp.* Sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung**” telah diuji dan disahkan pada:

Hari :

Tanggal : Januari 2020

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Skripsi,

Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti S.P., M.Sc
NIP. 197303252003122002

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Nanang Tri Haryadi S.P M.Sc.
NIP. 198105152005011003

Ir. Abdul Majid, MP
NIP. 196709061992031004

**Mengesahkan,
Dekan,**

Ir. Sigit Soepariono, MS., Ph.D.
NIP. 196005061987021001

RINGKASAN

Viabilitas *Bacillus sp.* sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung; Dhirham Khusma Fakhruddin; 151510501205; 2020; Halaman 61; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati yaitu salah satunya bakteri *Bacillus sp.* hal ini dikarenakan mampu menghambat *Colletotrichum* secara in vitro dengan penghambatan sebesar 52,3%. Penghambatan dapat terjadi karena genus *Bacillus* menghasilkan antibiotik yang bersifat racun bagi mikroba lain. *B. subtilis* juga mampu menghambat *Xanthomonas* hal ini dikarenakan adanya senyawa siderofor. Melihat banyaknya manfaat *Bacillus* maka perlu dilakukan formulasi untuk menjaga viabilitas dan daya hambat *Bacillus* dan juga untuk memudahkan dalam aplikasinya. Pemanfaatan *Bacillus* sebagai agen antagonis memiliki permasalahan dalam aplikasi dilapang hal ini dikarenakan dalam penggunaan bakteri dalam bentuk suspensi sel ini dapat menurunkan kemampuan dalam mengendalikan penyakit pada tanaman. Oleh sebab itu suspensi bakteri ini perlu dimobilisasi dalam bentuk formula dan diperbanyak dengan pembawa (*Carrier*) untuk mempertahankan daya hidup bakteri (Yanti dan Trimurti, 2015).

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan fakultas Pertanian Universitas Jember. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui viabilitas dan daya antagonis *Bacillus sp.* yang telah diformulasi pada beberapa jenis tepung terhadap patogen tanaman. Formulasi dilakukan dengan cara mengambil suspensi *Bacillus sp.* sebanyak 10 ml dengan populasi 10^{13} cfu/ml lalu dimasukkan kedalam masing-masing formulasi. Pengamatan uji viabilitas dilakukan dengan cara menghitung populasi *Bacillus sp.* dan uji antagonis *Bacillus sp.* terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* dan *Colletotrichum sp.*

Hasil penelitian menunjukkan *Bacillus sp.* setelah diformulasi masih mampu mempertahankan viabilitas dan daya antagonisnya. Viabilitas *Bacillus sp.* yang terbaik yaitu pada formulasi tepung beras pada 14 hsi sebesar $4,94 \times 10^{14}$ cfu/g dan zona hambat *Bacillus sp.* terbaik yaitu pada formulasi tepung jagung sebesar 13,1 mm dan daya hambat *Bacillus sp.* terbaik yaitu pada formulasi tepung tapioka pada 42 hsi sebesar 62,89% .

Kata kunci : *Formulasi, Bacillus sp., Xanthomonas axonopodis pv. glycines, Colletotrichum sp.*

SUMMARY

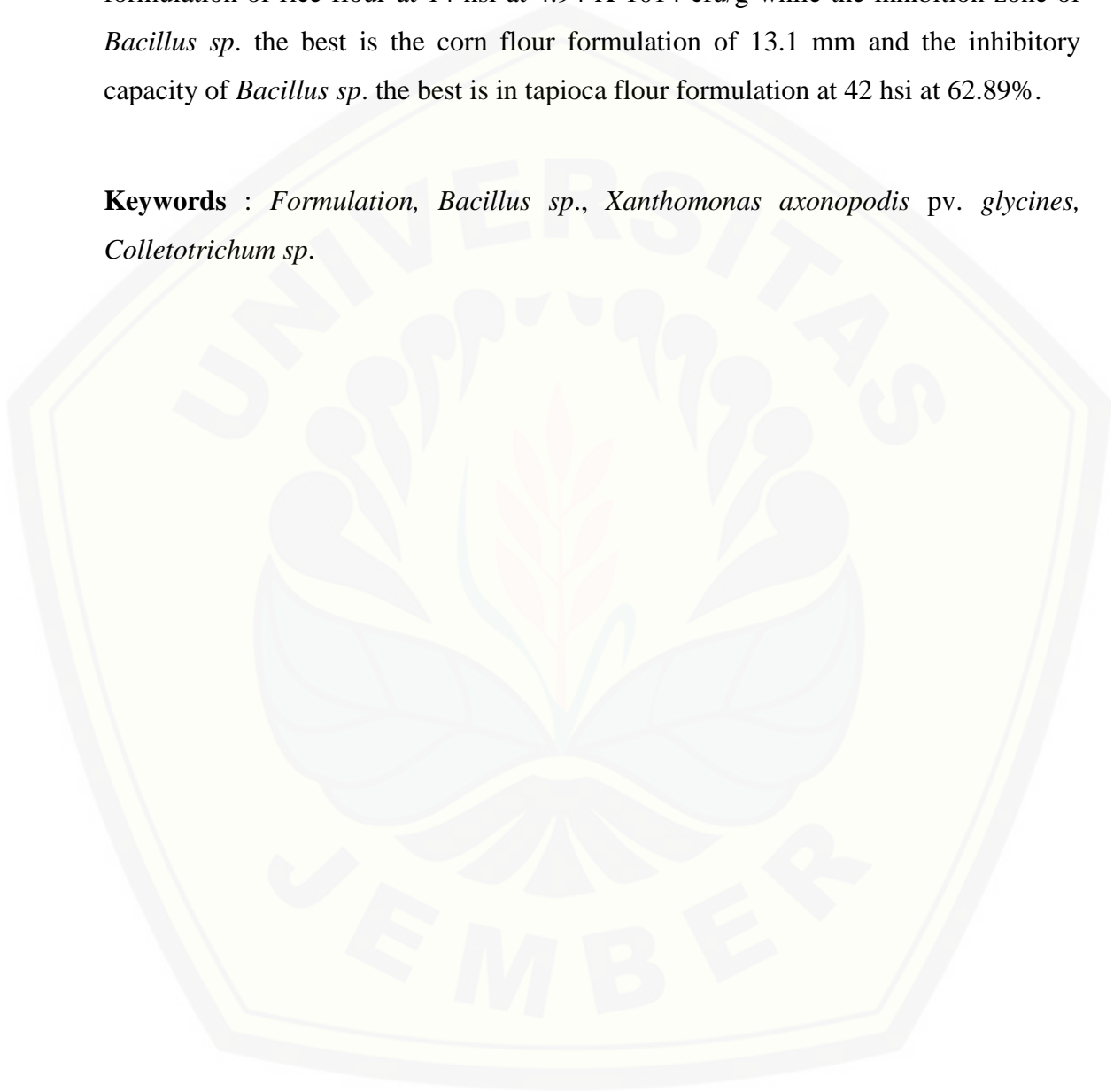
Viability of *Bacillus sp.* as a Plant Pathogen Antagonist Agent in Flour Based Formulations; Dhirham Khusma Fakhruddin; 151510501205; 2020; 61 Pages; Agrotechnology Study Program; Faculty of Agriculture; University of Jember.

Bacteria that can be used as biological control agents are *Bacillus sp.* this is because it can inhibit *Colletotrichum* in vitro with inhibition of 52.3%. Inhibition can occur because the genus *Bacillus* produces antibiotics that are toxic to other microbes. *Bacillus* is also able to inhibit *Xanthomonas* this is due to the presence of siderophore compounds. Seeing the many benefits of *Bacillus* it is necessary to formulate it to maintain the viability and inhibition of *Bacillus* and also to facilitate its application. Utilization of *Bacillus* as an antagonistic agent has problems in application in this field because the use of bacteria in the form of cell suspensions can reduce the ability to control disease in plants. Therefore this bacterial suspension needs to be mobilized in the form of formulas and propagated with a carrier (Carrier) to maintain the viability of bacteria (Yanti and Trimurti, 2015).

This research was conducted at the Plant Disease Laboratory, Faculty of Agriculture, University of Jember. This research was conducted to determine the viability and antagonistic power of *Bacillus sp.* which has been formulated in several types of flour against plant pathogens. The formulation was carried out by taking a suspension of *Bacillus sp.* as much as 10 ml with a population of 10^{13} cfu / ml then put into each formulation The study was conducted by observing the viability test by calculating the population of *Bacillus sp.* and the antagonist test of *Bacillus sp.* against *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* and *Colletotrichum sp.*

The result showed that *Bacillus sp.* after formulation it is still able to maintain viability and antagonistic power. Viability of *Bacillus sp.* the best is in the formulation of rice flour at 14 hsi at 4.94×10^{14} cfu/g while the inhibition zone of *Bacillus sp.* the best is the corn flour formulation of 13.1 mm and the inhibitory capacity of *Bacillus sp.* the best is in tapioca flour formulation at 42 hsi at 62.89%.

Keywords : *Formulation, Bacillus sp., Xanthomonas axonopodis pv. glycines, Colletotrichum sp.*



PRAKATA

Puji syukur atas kehadiran Allah S.W.T. atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya, penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Viabilitas *Bacillus sp.* sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung**” Tak lupa sholawat dan salam tetap tercurahkan kepada junjungan Nabi Besar Muhammad SAW.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari masukan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu ucapan terima kasih saya sampaikan kepada :

1. Bapak Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian, Universitas Jember
2. Bapak Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC selaku Ketua Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa agroteknologi.
3. Ibu Suhartingsih Dwi Nurcahyanti selaku Dosen Pembimbing Skripsi (DPS) untuk waktu, bimbingan, motivasi dan saran selama penyusunan skripsi ini.
4. Bapak Nanang Tri Haryadi S.P., M.S.c., selaku Dosen Pembimbing Riset (DPR) dan Dosen Penguji I yang telah memberikan kritik dan saran dalam menyempurnakan penyusunan skripsi ini.
5. Bapak Ir. Abdul Majid M.P. selaku Dosen Pembimbing Akademik (DPA) dan Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan saran dalam menyempurnakan penyusunan skripsi ini.
6. Kedua orang tua saya tercinta, kakak dan adik saya yang senantiasa mendukung saya baik secara moral, materil, kasih sayang, serta do'a sehingga dapat menyelesaikan pendidikan sarjana pertanian.
7. Teman-teman Agroteknologi 2015 yang memberikan dukungan moral, spiritual, dan hal kebaikan lainnya selama peneliti berkuliah di semester pertama hingga awal pelaksanaan dan berakhirnya penelitian.

8. Teman-teman Laboratorium Penyakit Universitas Jember yang selalu memberikan dukungan, dan arahan kepada peneliti selama pelaksanaan penelitian.
9. Teman-teman Kontrakan dan Kosan yang senantiasa memberikan dukungan dan motivasinya selama studi di Fakultas Pertanian, Universitas Jember.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu yang telah memberikan semangat, dukungan dan bantuan.

Semoga karya ilmiah tertulis ini dapat bermanfaat bagi para pembaca dan penulis juga menyadari bahwa karya ilmiah tertulis ini masih jauh dari sempurna sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk perbaikan selanjutnya.

Jember, 15 Januari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
MOTTO	iii
PERNYATAAN.....	iv
SKRIPSI.....	v
PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
SUMMARY	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR.....	xvi
DAFTAR LAMPRAN.....	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan	3
1.4 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 <i>Bacillus sp.</i> sebagai agen antagonis.....	5
2.1.1 Karakteristik dan fisiologi bakteri <i>Bacillus sp.</i>	5
2.1.2 Ekologi bakteri <i>Bacillus sp.</i>	
2.1.3 Mekanisme antagonisme bakteri <i>Bacillus sp.</i> terhadap patogen tanan	
2.2 Formulasi Biopestisida	7
2.3 Bahan formulasi agens antagonis	7
2.4 Hipotesis	9

BAB 3. METODE PENELITIAN.....	10
3.1 Waktu dan Tempat	10
3.2 Persiapan Penelitian.....	10
3.2.1 Menyiapkan alat dan bahan	10
3.2.2 Persiapan penelitian	10
3.3 Pelaksanaan Penelitian	12
3.3.1 Rancangan Penelitian.....	12
3.3.2 Prosedur Penelitian	12
3.4 Variabel Pengamatan.....	13
3.4.1 Viabilitas.....	13
3.4.2 Daya antagonisme.....	14
3.5 Analisis Data	15
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	16
4.1 Hasil	16
4.1.1 Karakteristik <i>Bacillus sp.</i>	16
4.1.2 Karakteristik <i>Xanthomonas axonopodis</i> pv. <i>glycines</i>	17
4.1.3 Karakteristik <i>Colletotrichum sp.</i>	17
4.1.4 Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap patogen sebelum diformulasi	18
4.1.5 Viabilitas <i>Bacillus sp.</i> dalam formulasi berbahan dasar tepung	18
4.1.6 Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap patogen setelah diformulasikan.....	22
4.2 Pembahasan	28
BAB 5. PENUTUP.....	32
5.1 Kesimpulan	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	37

DAFTAR TABEL

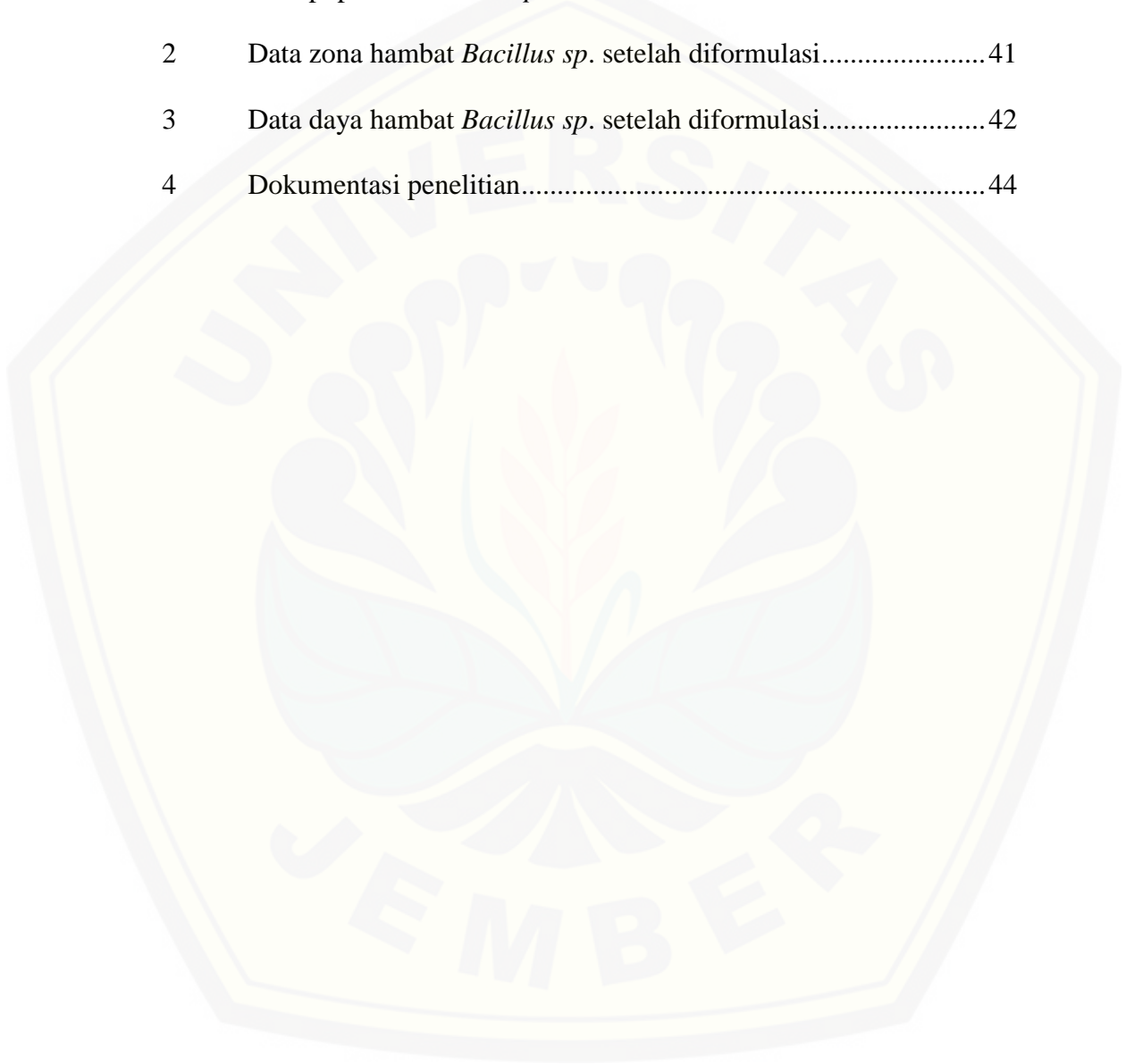
Tabel	Judul	Halaman
4.1	Kandungan beberapa tepung per 100 gram.....	9
4.2	Karakteristik tepung sebelum formulasi dan sesudah.....	19
4.3	Populasi <i>Bacillus sp.</i> pada saat 14 hsi dan 56 hsi.....	21
4.4	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Xag</i>	23
4.5	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i>	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
3.1	Uji daya hambat terhadap bakteri.....	14
3.2	Uji daya hambat terhadap jamur.....	15
4.1	Koloni <i>Bacillus sp.</i>	16
4.2	Karakteristik <i>Bacillus sp.</i> (a) Uji gram, (b) Uji HR	16
4.3	Koloni bakteri <i>X.a pv. glycines.</i>	17
4.4	Koloni jamur <i>Colletotrichum sp.</i>	17
4.5	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> sebelum digunakan dalam formulasi	18
4.6	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i>	18
4.7	formulasi <i>Bacillus sp.</i> berbahan dasar tepung, (a) Tepung beras +	19
4.8	Pertumbuhan jumlah koloni <i>Bacillus sp.</i> dalam formulasi tepung pada 56 hsi ..	22
4.9	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> pada 1 hsi.....	24
4.10	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> pada 14 hsi.....	24
4.11	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> pada 28 hsi.....	24
4.12	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> pada 42 hsi.....	25
4.13	Zona hambat <i>Bacillus sp.</i> pada 56 hsi.....	25
4.14	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i> pada 1 hsi	27
4.15	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i> pada 14 hsi	28
4.16	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i> pada 28 hsi	28
4.17	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i> pada 42 hsi	28
4.18	Daya hambat <i>Bacillus sp.</i> terhadap <i>Colletotrichum sp.</i> pada 56 hsi	28

DAFTAR LAMPRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Data populasi <i>Bacillus sp.</i> setelah diformulasi	39
2	Data zona hambat <i>Bacillus sp.</i> setelah diformulasi.....	41
3	Data daya hambat <i>Bacillus sp.</i> setelah diformulasi.....	42
4	Dokumentasi penelitian.....	44



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Agens antagonis adalah mikroorganisme yang dapat menghambat pertumbuhan patogen penyebab penyakit pada tanaman melalui persaingan hidup. Agens antagonis merupakan salah satu pengendalian hayati yang dapat digunakan untuk mengendalikan patogen tanaman. Menurut Van Driesche dan Bellows dalam Purnomo (2010) mengatakan bahwa pengendalian hayati sebagai penggunaan parasitoid, predator, antagonis atau kompetitor yang dapat menekan populasi OPT sehingga dapat menurunkan tingkat kerusakan bila dibandingkan jika musuh alami tidak ada. Pengendalian hayati saat ini menjadi faktor yang penting karena pengendalian hayati bersifat pengendalian yang ramah lingkungan. Agens antagonis dapat berupa jamur maupun bakteri. Bakteri yang dapat dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati yaitu salah satunya bakteri *Bacillus sp.*

Genus *Bacillus* yang digunakan sebagai agen pengendali hayati ini dapat digunakan untuk menghambat beberapa patogen seperti *Rhizoctonia*, *Pythium*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Xanthomonas*, *Erwinia*. Bakteri *Bacillus* dapat menghambat perkembangan patogen dengan melalui mekanisme persaingan, antibiosis dan pemacu pertumbuhan. *Bacillus* dapat menghasilkan enzim protease, amilase dan kitinase yang dapat menguraikan dinding sel patogen (Suriani dan Muis, 2016). Berdasarkan Puspita dkk., (2013) *Bacillus* dapat mengkoloni akar tanaman sehingga dapat berkompetisi dalam ruang dan nutrisi yang akhirnya dapat menekan patogen.

Pemanfaatan *Bacillus* sebagai agen pengendali hayati telah dibuktikan dengan *Bacillus* dapat menghambat perkembangan patogen *Fusarium verticillioides* hingga 98,5% pada level rhizoplane sedangkan pada endorhizosfer jagung. *B. subtilis* juga mampu menekan perkembangan dan pertumbuhan patogen *F. solani* hingga 82,1% (Suriani dan Muis, 2016). Selain itu berdasarkan Djaenuddin dan Muis (2015) *Bacillus* juga dapat digunakan untuk mengendalikan patogen yang disebabkan oleh nematoda peluka akar *Pratylenchus brachyurus*. *Bacillus NA22*, *Bacillus NJ46* dan

Bacillus NJ2 dengan metode perendaman akar mampu menekan populasi nematoda di akar yaitu sebesar 75%, 63% dan 60%. 'Aini dkk (2013) menyatakan bahwa *B. subtilis* mampu menghambat *Colletotrichum* secara in vitro sebesar 52,3%. Penghambatan yang dilakukan oleh *Bacillus* karena menghasilkan antibiotika yang bersifat racun bagi mikroba lain. Berdasarkan Agustiansyah dkk (2013) *Bacillus* juga mampu menghambat *Xanthomonas* hal ini dikarenakan *Bacillus* menghasilkan siderofor. Pemanfaatan *Bacillus* sebagai agen antagonis memiliki permasalahan dalam aplikasi dilapang hal ini dikarenakan dalam penggunaan bakteri dalam bentuk suspensi sel ini dapat menurunkan kemampuan dalam mengendalikan penyakit pada tanaman. Oleh sebab itu suspensi bakteri ini perlu dimobilisasi dalam bentuk formula dan diperbanyak dengan pembawa (*Carrier*) untuk mempertahankan daya hidup bakteri (Yanti dan Trimurti, 2015).

Perbanyak *Bacillus* dapat dilakukan dengan cara menumbuhkan bakteri pada suatu media, baik media cair maupun media padat. Media pertumbuhan yang akan dibuat untuk menumbuhkan bakteri ini memerlukan nutrisi untuk memenuhi kebutuhan energi dan untuk bahan pembangun sel, untuk sintesa protoplasma dan bagian-bagian sel lainnya. Media pertumbuhan untuk bakteri ini perlu mengandung karbon, hidrogen, nitrogen, karbohidrat, protein dan lain-lain yang berfungsi sebagai bahan makanan bagi bakteri (Gazali dkk., 2017). Pembuatan media yang dilakukan ini juga bertujuan untuk memudahkan dalam pengaplikasian nantinya oleh sebab itu perlu juga dilakukan pembuatan formulasi biopestisida.

Formulasi biopestisida bakteri ini juga perlu dilakukan karena Berdasarkan Muis dkk (2015) formulasi yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan bahan dasar media tepung, seperti tepung tapioka, tepung beras dan tepung jagung. Jumlah koloni isolat *B. Subtilis* TM4 (87) pada masing-masing formulasi yaitu tepung beras 13×10^5 cfu/ml, tapioka $4,33 \times 10^5$ cfu/ml, jagung $32,33 \times 10^5$ cfu/ml. Berdasarkan Advinda dalam Yanti (2017) bahan pembawa yang berupa tepung tapioka memiliki kepadatan yang cukup tinggi setelah disimpan 6 minggu yaitu $1,4 \times 10^{13}$ cfu/ml dan memiliki efektivitas antara 17,99-69,45%. Teknik formulasi juga perlu diberikan

penambahan nutrisi tambahan yang bertujuan sebagai bahan tambahan nutrisi bagi bakteri. Penambahan nutrisi yang dapat digunakan yaitu glukosa, urea dan CMC. Menurut Mugiastuti (2010) penambahan urea ke dalam formulasi dapat meningkatkan asupan nutrisi didalam formula itu sendiri. Sedangkan penambahan nutrisi yang berupa glukosa diberikan sebagai sumber makanan tambahan untuk bakteri (Hanudin dkk., 2010). Penambahan CMC pada formulasi memiliki fungsi sebagai perekat (Alfiah dkk., 2014). Penggunaan bahan dasar tepung tersebut digunakan karena mudah ditemukan dan juga memiliki harga yang murah. Formulasi ini juga dapat memudahkan petani dalam pengaplikasian dan juga transportasinya ke lahan. Berdasarkan hal tersebut peneliti ingin mengetahui viabilitas dan daya hambat bakteri *Bacillus sp.* dalam bentuk formulasi padat.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana viabilitas *Bacillus sp.* dalam formulasi beberapa jenis tepung?
2. Bagaimana daya antagonis *Bacillus sp.* yang telah diformulasi pada beberapa jenis tepung terhadap patogen tanaman?

1.3 Tujuan

1. Mengetahui viabilitas *Bacillus sp.* dalam formulasi beberapa jenis tepung.
2. Mengetahui daya antagonis *Bacillus sp.* yang telah diformulasi pada beberapa jenis tepung terhadap patogen tanaman.

1.4 Manfaat

1. Memberikan informasi tentang viabilitas *Bacillus sp.* dalam formulasi beberapa jenis tepung.
2. Memberikan informasi tentang daya antagonis *Bacillus sp.* yang telah diformulasi pada beberapa jenis tepung terhadap patogen tanaman.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Bacillus* sp. sebagai agen antagonis

2.1.1 Karakteristik dan fisiologi bakteri *Bacillus* sp.

Bacillus sp. digolongkan kedalam bakteri heterotrofik yaitu Protista yang memiliki sifat uniseluler dan termasuk kedalam golongan mikroorganisme redusen atau yang disebut dekomposer. *Bacillus* sp. selnya berbentuk basil, ada yang tebal dan yang tipis. Biasanya berbentuk rantai atau terpisah dan dapat membentuk endospora yang berbentuk bulat dan oval. *Bacillus* sp. Memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom : *Bacteria*
Kelas : *Bacilli*
Ordo : *Bacillales*
Famili : *Bacillaceae*
Genus : *Bacillus*
Spesies : *Bacillus* sp. (Holt *et al.*, 1994).

Bakteri *Bacillus subtilis* mempunyai sifat gram positif. Bakteri *B. subtilis* juga mampu tumbuh pada kondisi oksigen yang berkecukupan maupun dalam keadaan oksigen terbatas. Berdasarkan sifat pertumbuhannya *Bacillus* digolongkan sebagai bakteri yang memiliki sifat mesofilik (Arwiyanto dkk., 2007).

2.1.2 Ekologi bakteri *Bacillus* sp.

B. subtilis terdapat pada kondisi lingkungan tertentu. Bakteri *Bacillus* juga dapat bertahan pada suhu -5°C samapai 75°C yang memiliki tingkat keasaman atau pH antara 2-8. Bakteri *Bacillus* akan menjadi lebih banyak populasinya pada suhu 40°C . Bakteri *Bacillus* sp. dalam kehidupannya memerlukan kelembaban yang tinggi untuk dapat bertahan hidup dilingkungannya (Djaenuddin dan Amran, 2015)..

B. subtilis dapat tumbuh dalam kondisi aerob dan dapat menghasilkan endospora. Endospora yang dihasilkan oleh *B. subtilis* yang dapat berguna untuk

mempertahankan hidup *B. subtilis* pada kondisi lingkungan yang ekstrim oleh sebab itu *B. subtilis* dapat berkembang dan beradaptasi pada berbagai macam kondisi lingkungan (Nicholson, 2002).

2.1.3 Mekanisme antagonisme bakteri *Bacillus sp.* terhadap patogen tanaman

B. subtilis merupakan mikroorganisme antagonis yang dapat digunakan sebagai agen hayati terhadap penyakit yang menyerang tanaman. *B. subtilis* di dalam dunia pertanian sangat bermanfaat bagi tanaman dalam mengendalikan beberapa patogen. Menurut Zongzheng *et al.* dalam Suriani dan Muis (2016) *B. subtilis* dapat menghambat patogen melalui cara persaingan dan antibiotik. Penghambatan yang dilakukan dengan cara persaingan dilakukan *B. subtilis* dengan cara melakukan persaingan baik ruang maupun makan terhadap patogen sehingga patogen tidak memperoleh ruang dan makanan yang cukup untuk tumbuh dan berkembang. Penghambatan melalui antibiotik dilakukan *B. subtilis* dengan cara mengeluarkan suatu senyawa yang dapat menghambat patogen. Salah satu patogen yang dapat dikendalikan dengan bakteri *B. subtilis* adalah penyakit bulai pada jagung yang disebabkan oleh jamur atau cendawan. Bakteri ini dapat menghasilkan senyawa yang bersifat antibiosis seperti enzim kitinase yang dapat menghidrolisis dinding sel jamur, kemudian menghasilkan enzim siderofor dan antibiotik lainnya yang dapat menghambat perkembangan patogen (Jatnika dkk., 2013). Berdasarkan 'Aini (2013) senyawa antibiosis yang dihasilkan oleh *Bacillus sp.* yaitu streptavidin, basitrasin, surfaktin, fengisin, inturin A, polimiksin, subtilisin, subtilin, mikrobasilin. Hal ini terbukti pada hari kelima setelah aplikasi *B. subtilis* pertumbuhan *C. gloesporioides* mulai berhenti. *B. subtilis* juga mampu menghambat pertumbuhan *Xanthomonas* hal ini dikarenakan *B. subtilis* juga menghasilkan senyawa HCN dan siderofor (Agustiansyah dkk., 2013).

2.2 Formulasi Biopestisida

Menurut Azzamy (2015) formulasi merupakan bentuk campuran antara bahan aktif dan bahan penambahan yang digunakan dalam produksi suatu jenis pestisida. Formulasi pestisida dapat memberikan manfaat untuk menentukan bentuk dan komposisi pestisida yang akan digunakan dan juga berapa dosis, interval penggunaan serta sasarannya, selain itu juga dapat menentukan aspek keamanan pestisida tersebut (Riadi, 2017). Formulasi biopestisida terdapat 2 macam bentuk yaitu formulasi cair dan formulasi padat. Formulasi padat dalam biopestisida dapat digolongkan lagi yaitu formulasi tepung, granula dan lain-lain. Formulasi biopestisida juga memerlukan bahan pembawa tambahan, bahan pembawa tambahan yang dapat digunakan yaitu urea dan glukosa. Penambahan urea diberikan untuk meningkatkan kandungan nutrisi dalam formula tersebut dan urea mengandung unsur N yang mengandung asam amino, peptida, vitamin dan karbohidrat (mugiastuti dkk., 2010).

2.3 Bahan formulasi agens antagonis

Media merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme baik dalam mengkultur bakteri, jamur ataupun organisme lain. Media yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri cukup memenuhi nutrisi untuk menumbuhkan bakteri seperti karbon, nitrogen, sulfur, fosfor, dan unsur logam seperti Ca, Zn, Na, K, Mn, Mg Fe dan lain-lain. Nutrisi media untuk menumbuhkan bakteri yang paling dibutuhkan yaitu karbohidrat dan protein (Juariah dan Sari, 2018). Menurut Advinda dalam Yanti (2017) *Bacillus* dengan bahan pembawa formulasi berupa tepung tapioka mempunyai kepadatan populasi setelah disimpan 6 minggu yaitu $1,4 \times 10^{13}$ cfu/ml dan memiliki keefektifan pada serangan pustul bakteri sebesar 17,99-69,45%. Menurut Yanti dkk (2015) Tepung talk dan tepung tapioka sebagai bahan pembawa memiliki kemampuan yang sama hal ini karena kondisi fisik tepung talk dan tapioka hampir sama sebagai bahan pembawa isolat rizobakteri.

Media formulasi berbahan dasar tepung juga dilakukan penambahan bahan lain yang bertujuan untuk memberikan sumber nutrisi bagi *B. subtilis*. Bahan tambahan yang digunakan yaitu urea dan glukosa. Menurut Aunstrup dalam Naiola (2002), unsur yang paling dibutuhkan oleh bakteri yaitu nitrogen dan karbon hal ini dikarenakan unsur nitrogen sangat diperlukan untuk pertumbuhan bakteri sedangkan karbon untuk meningkatkan energi biosintesis. Pupuk urea merupakan pupuk tunggal yang memiliki salah satu pupuk yang memiliki sumber N yang banyak yaitu 45%. Menurut Mugiastuti (2010) penambahan urea ke dalam formulasi dapat meningkatkan asupan nutrisi didalam formula itu sendiri. Sedangkan penambahan nutrisi yang berupa glukosa diberikan sebagai sumber makanan tambahan untuk bakteri (Hanudin dkk., 2010). Menurut Wahyudi (2008) Penambahan glukosa dan urea dengan komposisi 10g/l dan 6 g/l dapat memberikan pengaruh yang optimal terhadap pertumbuhan *Beauveria bassiana*.

Menurut Muis dkk (2015) formulasi *B. subtilis* dengan bahan pembawa tambahan berbahan dasar tepung talk, tepung beras dan tepung jagung yang menunjukkan populasi bakteri cukup baik yaitu talk dengan rata-rata 99×10^5 cfu/ml lalu tepung jagung 88×10^5 cfu/ml. Talk merupakan mineral sekunder dari hasil hidrasi batuan pembawa magnesium seperti magnesium, silika dan juga dolomit (Nuraeni dkk., 2016). Menurut Wahdania dkk., (2017) formulasi dengan bahan pembawa tepung ketan dan jagung manis dan tepung kelapa tua mampu memperthankan daya hambat jamur *Aspergillus niger* lebih dari 60% terhadap *Phytophthora palmivora*. Tepung kulit rajungan yang digunakan sebagai bahan formulasi *Bacillus polymixa* terhadap *Colletotrichum acutatum* mempunyai zona hambatan sebesar 10 mm (Widodo dan Suryo, 2012). Menurut Logam dan berkeley dalam Waskita (2013) unsur natrium dan karbon dapat digunakan oleh *B. subtilis* untuk proses metabolisme dan pertumbuhannya. Berikut merupakan kandungan beberapa tepung, seperti tabel 4.1

Tabel 4.1 Kandungan beberapa tepung per 100 gram

Nutrisi	tepung jagung	tepung tapioka	tepung beras
kalori (kcal)	360	129	365
jumlah lemak	1,35 g	3,9 g	0,66 g
Kolesterol	-	1 mg	-
Natrium	9 mg	145 mg	0 mg
Kalium	270 mg	92 mg	28 mg
Karbohidrat	18,7 g	22 g	79 g
Kalsium	2 mg	71 mg	10 mg

(Direktorat Gizi Departemen Kesehatan R.I, 2005)

2.4 Hipotesis

1. Jenis tepung memberikan pengaruh yang berbeda-beda terhadap viabilitas *Bacillus sp.*
2. Jenis tepung memberikan pengaruh yang yang berbeda-beda terhadap daya antagonis terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* dan *Colletotrichum sp.*

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian mengenai “Viabilitas *Bacillus sp.* Sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung.” dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Fakultas Pertanian pada bulan Mei sampai selesai.

3.2 Persiapan Penelitian

3.2.1 Menyiapkan alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian yaitu cawan petri, mikropipet, laminar air flow, tabung reaksi, gelas ukur 50 ml, beaker glass, Erlenmeyer, autoclave, timbangan analitik, vortex, pH meter, bunsen, inkubator.

Bahan yang digunakan yaitu isolat *Bacillus sp.*, isolat *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*, isolat *Colletotrichum sp.*, media NA, media YPGA, tepung talk, tapioka, jagung, beras, aquades, plastik wrap, aluminium foil, kapas, karet, kertas buram, label, alkohol.

3.2.2 Persiapan penelitian

1. Peremajaan dan perhitungan populasi *Bacillus sp.* sebelum diformulasi

Peremajaan *Bacillus sp.* (koleksi dari Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyati S.P, M.Si) dengan cara mengambil 1 ose isolat kemudian digoreskan pada media NA lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang untuk memperoleh koloni tunggal (Jatnika dkk., 2013). Kemudian bakteri pada media dibuat menjadi suspensi lalu diencerkan dan masing-masing pengenceran ditumbuhkan pada media NA yang selanjutnya diinkubasi selama 48 jam dan diamati populasi bakteri yang dapat memperoleh seri pengenceran yang memiliki populasi 10^{13} cfu/ml.

2. Peremajaan isolat *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* dan *Colletotrichum sp.*

Peremajaan *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* (koleksi dari Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti S.P, M.Si) dengan cara mengambil 1 ose isolat kemudian digoreskan pada media NA lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang untuk memperoleh koloni tunggal dan peremajaan *Colletotrichum sp.* (koleksi Hurin Nabila) dengan cara mengambil 1 plong isolat kemudian ditanam pada media YPGA lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang untuk memperoleh koloni tunggal.

3. Uji antagonisme *Bacillus sp.* terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* sebelum diformulasi

Uji daya antagonisme isolat *Bacillus sp.* terhadap *Xag* dapat dilakukan dengan menggunakan metode *dual planting* yaitu dengan cara menumbuhkan isolat *Bacillus sp.* pada media NA dengan cara menggunakan tusuk gigi steril dengan menitikkan. Setelah itu dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah itu cawan petri dibalik dan memberikan larutan klorofom sebanyak 1 ml dari tepi tutup cawan petri dan diamkan selama 2 jam setelah itu dibalik lagi ke posisi semula. Setelah itu menuangkan suspensi *Xag* sebanyak 0,2 ml dalam agar air 0,6% sebanyak 4 ml lalu diinkubasi selama 24 jam untuk diamati zona hambatan (Saputra dkk., 2015).

4. Uji antagonisme *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* sebelum diformulasi

Uji daya antagonisme isolat *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* dapat dilakukan dengan cara mengambil isolat *Bacillus sp.* dan *Colletotrichum sp.* Menitikkan *Colletotrichum sp.* di tengah-tengah cawan petri sebagai kontrol. Menitikkan *Colletotrichum sp.* ditengah dan 4 titik *Bacillus* dipinggir cawan petri dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri sebagai perlakuan (Muharni dan Hary, 2011).

5. Persiapan media dan suspensi *Bacillus sp.* sebelum diformulasi

Menyiapkan media dasar formulasi yaitu tepung tapioka, tepung talk, tepung beras, tepung jagung masing-masing sebanyak 100 g dengan 5 ulangan lalu disterilkan. Media yang telah disterilkan lalu ditambahkan dengan beberapa bahan tambahan seperti glukosa, urea dan CMC. Setelah itu menyiapkan suspensi *Bacillus sp.* dengan populasi 10^{13} cfu/ml dan mencampurkan ke dalam masing-masing media tepung.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 perlakuan dan 5 ulangan. 4 perlakuan tersebut yaitu formulasi media padat tepung yang digunakan yaitu T1: tepung tapioka (100 g) + glukosa (0,5 g) + urea (0,5 g) + CMC (0.1 g), T2: tepung talk (100 g) + glukosa (0,5 g) + urea (0,5 g) + CMC (0.1 g), T3: tepung beras (100 g) + glukosa (0,5 g) + urea (0,5 g) + CMC (0.1 g), T4: tepung jagung (100 g) + glukosa (0,5 g) + urea (0,5 g) + CMC (0.1 g).

3.3.2 Prosedur Penelitian

3.3.2.1 Formulasi *Bacillus sp.* berbahan dasar tepung

1. Pembuatan formulasi.

Media tepung sebanyak 100 gram + glukosa 0,5 gram + urea 0,5 gram + CMC 0.1 gram yang telah disterilkan lalu dicampur sampai homogen. Media yang telah dicampur siap dilakukan inokulasi dengan *Bacillus* yang telah dihitung populasinya. Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil suspensi *Bacillus sp.* sebanyak 10 ml dengan populasi 10^{13} cfu/ml lalu dimasukkan kedalam masing-masing formulasi.

2. Viabilitas *Bacillus sp.* setelah diformulasikan pada media tepung.

Viabilitas ini dilihat dari pertumbuhan *Bacillus sp.* dengan cara menghitung populasi yang dilakukan dengan cara mengambil 1 gram *Bacillus sp.* pada formulasi

tepung lalu memasukkan kedalam tabung reaksi yang telah berisi 9 ml air steril lalu memvortex sampai homogen. Setelah itu dilakukan pengenceran. Hasil pengenceran diambil sebanyak 100 μ l suspensi dan menumbuhkan ke media NA lalu menginkubasi selama 24-48 jam.

3.3.2.2 Uji Daya hambat *Bacillus sp.* Terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* setelah diformulasikan pada media tepung

Uji daya antagonisme isolat *Bacillus sp.* terhadap *Xag* dapat dilakukan dengan dengan cara menumbuhkan *Bacillus sp.* yang tumbuh pada viabilitas *Bacillus sp.* setelah diformulasikan pada media tepung ke media NA dengan cara menggunakan tusuk gigi steril dengan menitikkan. Tahap selanjutnya dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Setelah inkubasi dilakukan cawan petri dibalik dan memberikan larutan kloroform sebanyak 1 ml dari tepi tutup cawan petri dan diamkan selama 2 jam setelah itu dibalik lagi ke posisi semula. Cawan petri yang telah dibalik seperti semula lalu dituangkan suspensi *Xag* sebanyak 0,2 ml dalam agar air 0,6% sebanyak 4 ml lalu diinkubasi selama 24 jam.

3.3.2.3 Uji antagonisme *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* setelah diformulasi pada media tepung

Uji daya antagonisme isolat *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* dapat dilakukan dengan cara mengambil isolat *Bacillus sp.* dan *Colletotrichum sp.* Menitikkan *Colletotrichum sp.* di tengah-tengah cawan petri sebagai kontrol. Menitikkan *Colletotrichum sp.* ditengah dan 4 titik *Bacillus* dipinggir cawan petri dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri sebagai perlakuan (Muharni dan Hary, 2011).

3.4 Variabel Pengamatan

3.4.1 Viabilitas

Viabilitas bakteri diamati setiap 2 minggu sekali sampai jumlah populasi dibawah 10^8 cfu/ml dengan cara menghitung populasi koloni bakteri yang tumbuh

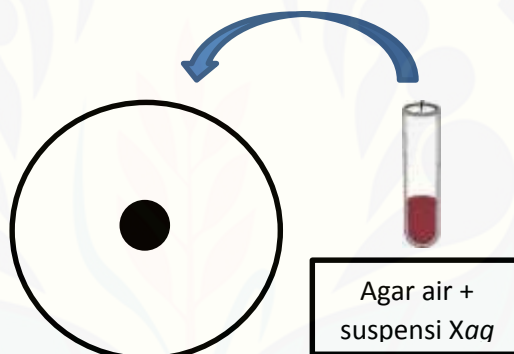
dengan menggunakan metode *plate count* dengan menggunakan rumus menurut Hanif (2016).

$$cfu/gram = \frac{\text{jumlah total koloni}}{\text{volume yang disebar ke cawan petri X faktor pengenceran}}$$

3.4.2 Daya antagonisme

3.4.2.1 Uji antagonis bakteri *Bacillus sp.* terhadap *Xag*

Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode dual planting. Pengamatan ini dilakukan sebelum formulasi dan sesudah formulasi setiap 2 minggu sekali dengan cara melakukan perhitungan zona hambat dengan menggunakan rumus menurut Wati dkk., (2017) :



Gambar. 3.1 Uji daya hambat terhadap bakteri

$$\text{Zona hambat} = \frac{x1 + x2 + x3 + x4}{4}$$

Keterangan :

x1 = sisi 1 zona hambatan

x2 = sisi 2 zona hambatan

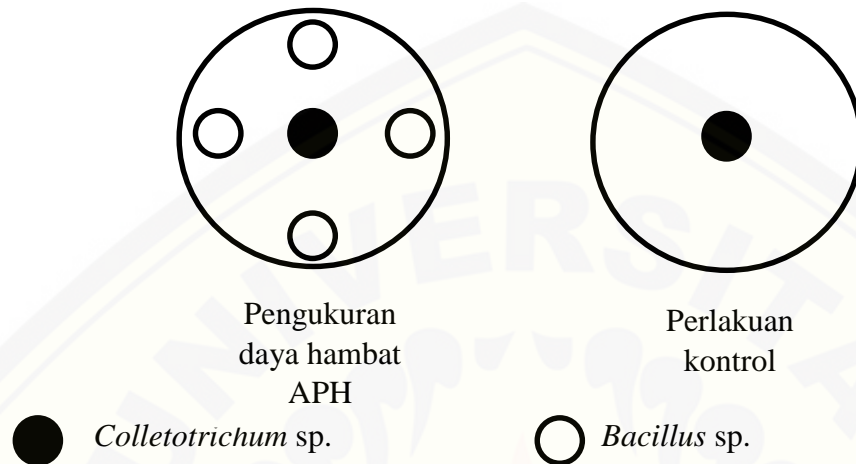
x3 = sisi 3 zona hambatan

x4 = sisi 4 zona hambatan

3.4.2.2 Uji antagonis bakteri *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.*

Uji antagonis dilakukan dengan menggunakan metode dual culture. Pengamatan ini dilakukan sebelum formulasi dan sesudah formulasi setiap 2 minggu sekali

dengan cara perhitungan daya antagonisme *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum* menggunakan rumus menurut Narayanasammy (2013):



Gambar 3.2 Uji daya hambat terhadap jamur

$$R = \frac{R_c - R_i}{R_c} \times 100\%$$

R = Persentase penghambatan (%)

R_c = Jari-jari koloni jamur pada control (mm)

R_i = Jari-jari menuju pust antagonis (mm)

3.5 Analisis Data

Data yang di peroleh dari hasil pengamatan di analisis menggunakan ANOVA, jika hasil anova menunjukkan F-Hitung yang berbeda nyata maka di lanjutkan dengan uji DMRT (uji jarak ganda duncan) dengan taraf kepercayaan 5% untuk melihat perlakuan mana yang memberikan efek berbeda.

BAB 5. PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Formulasi tepung beras + urea + glukosa + CMC, formulasi tepung jagung + urea + glukosa + CMC, formulasi tepung tapioka + urea + glukosa + CMC, formulasi tepung talk + urea + glukosa + CMC mampu mempertahankan viabilitas *Bacillus sp.* hingga 56 hsi. Formulasi tepung beras + urea + glukosa + CMC menjadi perlakuan terbaik dengan populasi *Bacillus sp.* sebesar $1,64 \times 10^9$ cfu/g pada 56 hsi.
2. Formulasi tepung jagung + urea + glukosa + CMC dengan masa simpan 42 hsi menjadi perlakuan terbaik sehingga mendukung zona hambat *Bacillus sp.* terhadap *Xag* sebesar 13,1 mm.

Formulasi tepung tapioka + urea + glukosa + CMC dengan masa simpan 42 hsi menjadi perlakuan terbaik sehingga mendukung daya hambat *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* sebesar 62,8%.

5.2 Saran

Sebaiknya formulasi *Bacillus sp.* dalam tepung digunakan pada penyimpanan 42 hsi.

DAFTAR PUSTAKA

- ‘Aini, febrilia N., Sri-sukamto, D. Wahyuni, G. Suhesti dan Q. Ayunin. 2013. Penghambatan Pertumbuhan *Colletotrichum gleosporides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. *Pelita Perkebunan*, 29 (1): 44-52.
- Achmad, Dwi I., R. Nnofiani dan P. Ardiningsih. 2015. Karakterisasi Bakteri Asam Laktat *Lactobacillus* sp. RED, Dari Cincalok Formulasi.
- Agustiansyah, S. Ilyas, S. Sudarsono dan M. Machmud. 2013. Karakterisasi Rhizobakteri Yang Berpotensi Mengendalikan Bakteri *Xanthomonas Oryzae* pv *Oryzae* Dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Padi. *HPT Tropika*, 13(1): 42-51.
- Alfiah, A. Majid dan S. Hasjim. 2014. Efektivitas Formulasi tepung Biofungisida Berbahan Aktif *Trichoderma harzianum* Terhadap Serangan Patogen Tular Tanah dan pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Tembakau. *Berkala Ilmiah Pertanian*.
- Arwiyanto, Triwidodo, YMS. Maryudani dan A. E. Prasetyo. 2007. Karakterisasi Dan Uji Aktivitas *Bacillus* spp. Sebagai Agensia Pengendali Hayati Penyakit Lincat Pada Tembakau Temanggung. *Berk. Penel. Hayati*, 12 (1): 93-98.
- Azzamy. 2015. <https://mitalom.com/mengenal-bentuk-formulasi-pestisida/>. Pada tanggal 27 April 2019 pukul 15.00 WIB.
- Bintari, Siti H., A. Dyah P., V. Eka J., dan R. Citra R. 2008. Efek inokulasi Bakteri *Micrococcus luteus* terhadap pertumbuhan Jamur Benang dan Kandungan Isoflavon paada Proses Pengolahan Tempe. *Biosaintifika*, 1 (1): 1-8.
- Djaenuddin, Nurasih dan A. Muis. 2015. Karakteristik Bakteri Antagonis *Bacillus subtilis* Dan potensinya Sebagai Agens Pengendali Hayati. *Prosiding Seminar Nasional Serelia*.
- Faturrahman. 2001. Kemampuan *Bacillus subtilis* GB03 yang Diberi Sumber Krbn Alami yang Berbeda Dalam Menghambat Pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *Pen. Unram*, 2 (12).
- Gazali, akhmad, Ilhamiyah, dan A. Jaelani. 2017. *Bacillus Thuringiensis Biologi, Isolasi, Perbanyakkan dan Cara Aplikasinya*. Banjarmasin: Pustaka Banua.

- Giyanto, dan E. T. Tondok. 2009. Kajian Pemanfaatan Limbah Organik Cair Untuk pembiakan Masal Agens Antagonis *Pseudomonas fluorescens* Serta Uji Potensinya Sebagai Bio-pestisida. *Ilmu Pertanian Indonesia*, 14 (2): 97-107.
- Hanif, Rizki A. 2016. Pertumbuhan *Bacillus subtilis* pada media perbanyakan Cair dan Daya Antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubunse*. Skripsi.
- Hanudin, W. Nuryani, E. Silvia, I. Djatnika, dan B. Marwoto. 2010. Formulasi Biopestisida berbahan Aktif *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Corynebacterium* sp. Nonpatogenik untuk Mengendalikan Penyakit Karat Pada Krisan. *Hort* 20 (3): 247-261.
- Holt, JG, Krieg, NR., Snealth PHA., Stanley JT. & William ST. 1994. *Bergeys Manual Determinative Bacteriology*. Baltimore. William and wilkins Baltimore.
- Jatnika, W. Abdul L. A. dan Luqman Q. A. 2013. Pengaruh Aplikasi *Bacillus Sp.* dan *Pseudomonas sp.* terhadap Perkembangan Penyakit Bulai Yang Disebabkan Oleh Jamur *Peronosclerospora maydis* Pada Tanaman Jagung. *HPT*, 2(3) : 18-25.
- Juariah, Siti dan W. P. Sari. 2018. Pemanfaatan Limbah Cair Industri Tahu Sebagai Media Alternatif Pertumbuhan *Bacillus sp.* *Analisis Kesehatan Sains*, 6(1): 24-29.
- Khaeruni, Andi R., B. Tjahjono, A. Surwanto dan M. S. Sinaga. 2008. Virulensi Sejumlah Isolat *Xanthomonas Axonopodis* pv. *Glycines* asal Edamame Pada Tiga Varietas Kedelai. *HPT Tropika*, 8 (1): 39-46.
- Khaeruni, Andi, Asrianto dan A. Rahman. 2013. Efektivitas Limbah Cair pertanian sebagai Media perbanyakan dan Formulasi *Bacillus subtilis* sebagai Agens Hayati Patogen Tanaman. *Agroteknos*, 3 (3): 144-151.
- Mugiastuti, Endangg, L. Soesanto dan R. F. Rahayuniati. 2010. Pemanfaatan *Pseudomonas fluorescens* P60 Dalam Formula Cair Organik Untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat. *Seminar Nasional Pengelolaan OPT Ramah Lingkungan*.
- Muharni dan H. Widjajanti. 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis terhadap pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus*) Dari Rizosfir Tanaman Karet. *Penelitian Sains*, 14(1): 51-56.

- Muis, Amran, N. Djaenuddin dan N. Nonci. 2015. Evaluasi Lima Jenis Inner Carrier Dan Formulasi *Bacillus subtilis* Untuk Pengendalian hawar Pelepah Jagung (*Rhizoctonia solani* Kuhn). *HPT Tropika*, 15(2): 164-169.
- Naiola, Elidar dan W. Widhyastuti. 2002. Isolasi, Seleksi Dan Optimasi Produksi Protease Dari beberapa Isolat Bakteri. *Berita Biologi*, 6(3): 467-473.
- Narayanasammy, P. 2013. Biological Management of Diseases of Crop. *Springer* : Newyork.
- Nicholson, W. L. 2002. Roles of Bacillus Endospores In The Environment. *Cell. Mol. Life. Scie.* 59. 410-416.
- Nuraeni, Chicha, Retno Y. dan D. Rahmi. 2016. Sintesis Talk Dari Batuan Dolomit Dan Kuarsa Lokal Serta Prospeknya Untuk Industri Kimia Dan Farmasi. *Kimia dan Kemasan*, 38(2): 69-76.
- Pratama, Sakti W., Sri-sukamto, I. N. Asyiah dan Y. V. Ervina. 2013. Penghambatan Pertumbuhan Jamur Patogen Kakao *Phytophthora palmivora* oleh *Pseudomonas fluorescense* dan *Bacillus subtilis*. *Pelita Perkebunan*, 29 (2): 120-127.
- Prihatingsih, Nur dan H. A. Djatmiko. 2016. Enzim amilase Sebagai Komponen Antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *ralstonia solanacearum* Kentang. *HPT Tropika*, 16 (1): 10-16.
- Purnomo, H. 2010. *Pengantar Pengendalian Hayati*. Yogyakarta: Andi offset.
- Puspita, F., F. Restuhadi dan D. Zul. 2012. *Formulasi Bacillus sp. Sebagai Antimikroba dan Pupuk Organik*. Riau: Universitas Riau.
- Puspita, Fifi, D. Zul dan A. Khoiri. 2013. Potensi *Bacillus sp.* Asal Rhizosfer Giam Siak kecil Bukkit Batu Sebagai Rhizobacteria Pemacu Pertumbuahn Dan Antifungi Pada Pembibitan Kelapa Sawit. *Prosiding Seminar Nasional*.
- Riadi, Muchlisisn. 2017. <https://www.kajianpustaka.com/2017/11/pengertian-formulasi-dan-jenis-jenis-pestisida.html>. Pada tanggal 27 April 2019 pukul 16.00 WIB.
- Runtuboi, Dirk Y. P., T. Gunaedi, M. Simonapendi dan N. N. L. Pakpahan. 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Termofilik dari Sumber Air Panas di Moso Distrik Muara Kota Jayapura Provinsi Papua. *Biologi Papua*, 10 (2): 68-73.

- Saputra, Rachmad, Triwidodo A. dan Arif W. 2015. Uji Aktivitas Antagonistij Beberapa Isolat *Bacillus spp.* Terhadap penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) Pada beberapa Varietas Tomat dan Identifikasinya. *Pros Semnas Masy Biodiv Indon*, 1 (5): 1116-1122.
- Sari, Rohmah A., R. Nofiani dan P. Ardiningsih. 2012. Karakteristisasi Bakteri Asam laktat Genus *Leuconostoc* Dari Pekasam Ale-ale Hasil Formulasi Skala Laboratorium.
- Suriani dan A. Muis. 2016. Prospek *Bacillus subtilis* Sebagai Agen Pengendali Hayati Patogen Tular Tanah Pada Tanaman Jagung. *Litbang pert*, 35 (1): 37-45.
- Wahdania, Indah, Asrul dan Rosmin. 2017. Uji daya Hambat *Aspergillus niger* Pada berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Phytophthora palmivora* Penyebab Busuk Buah Kakao (*Theobroma cacao L.*). *Agrotekbis*, 5 (1): 18-26.
- Wahyudi, Priyo. 2008. Produksi Mikroinsektisida Dari Propagul Kapang *Beauveria bassiana*. *Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi*, 9(2): 66-79.
- Waskita, Madya A. 2013. Daya Antibakteri Supernatan Isolat *Bacillus subtilis* dari Tanah Terhadap Bakteri *Aeromonas hydrophila* Dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Skripsi.
- Wati, Fajar D. A., S. D. Nurcahyanti, dan H. S. Addy. 2017. Eksplorasi *Bacillus spp.*, dari perakaran Kubis Sebagai Agen Antagonis *Xanthomonas campestris* pv. *Campestris*. *Agritop*, 15 (2).
- Widodo, S. wiryono. 2012. Formulasi tepung Biofungisida Berbahan Aktif Ganda *Pseudomonas Fluorescens* PG 01 dan *Bacillus polymixa* BG 25. *Ilmu pertanian Indonesia*, 17 (3): 180-185.
- Yanti, Yulmira dan T. Habazar. 2015. Efektivitas Formulasi Bakteri Endofit Indigenos Untuk Pengendalian Penyakit Pustul Bakteri. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian Tanaman Aneka Kacang Dan Umbi*.
- Yanti, Yulmira, T. Habazar dan Z. Resti. 2017. Formulasi Padat Rhizobakteria Indigenus *Bacillus Thuringiensis* TS2 Dan Waktu Penyimpanan Untuk Mengendalikan Penyakit Pustul Bakteri *Xanthomonas Axonopodis* Pv. *Glycines*. *HPT Tropika*, 17(1): 9-18.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Data populasi *Bacillus sp.* setelah diformulasi

a. Data pengamatan populasi *Bacillus sp.* pada 56 hsi.

Rep	Perlakuan				Jumlah
	Tepung Beras	Tepung jagung	Tepung Tapioka	Tepung Talk	
1	1450000000	1100000000	335000000	90000000	2975000000
2	1970000000	1340000000	110000000	190000000	3610000000
3	1300000000	1580000000	384000000	80000000	3344000000
4	1120000000	920000000	152000000	95000000	2287000000
5	2340000000	1650000000	310000000	111000000	4411000000
Jumlah	8180000000	6590000000	1291000000	566000000	16627000000
Rata-rata	1636000000	1318000000	258200000	113200000	3325400000

b. Data transformasi populasi *Bacillus sp.* pada 56 hsi.

Rep	Perlakuan				
	Tepung Beras	Tepung jagung	Tepung Tapioka	Tepung Talk	
1	9,161	9,041	8,525	7,954	34,681
2	9,294	9,127	8,041	8,279	34,741
3	9,114	9,199	8,584	7,903	34,8
4	9,049	8,964	8,182	7,978	34,173
5	9,369	9,217	8,491	8,045	35,122
Jumlah	45,987	45,548	41,823	40,159	173,517
Rata-rata	9,1974	9,1096	8,3646	8,0318	34,7034

c. Analisis Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	3	4,86	1,62	60,33	3,24	5,29
Error (Galat)	16	0,43	0,03			
TOTAL	19	5,29				

d. Uji Duncan Multiple Range Test (DMRT)

Nilai UJD 5%

p	2	3	4	5
sd	0,10	0,10	0,10	0,10
ssr5%	3,00	3,15	3,23	3,30
nilai dmrt	0,30	0,32	0,33	0,33

Perlakuan	Rata-rata	TB	TJ	TT	TTK	Notasi
TB	9,20	0,00				a
TJ	9,11	0,09	0,00			a
TT	8,36	0,84	0,75	0,00		b
TTK	8,03	1,17	1,08	0,33	0	c
		0,27	0,26	0,26	0,25	
	p	5	4	3	2	

Lampiran 2. Data zona hambat *Bacillus sp.* setelah diformulasi

a. Data pengamatan zona hambat *Bacillus sp.* terhadap *Xag* pada 56 hsi.

Rep	Perlakuan				Jumlah
	Tepung Beras	Tepung jagung	Tepung Tapioka	Tepung Talk	
1	12	11,25	5,5	5,5	34,25
2	12,5	12,5	4	0	29
3	0	12	0	5	17
4	11	0	4,75	4,25	20
5	11,5	11,5	4	4,5	31,5
Jumlah	47	47,25	18,25	19,25	131,75
Rata-rata	9,4	9,45	3,65	3,85	26,35

b. Analisis Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
perlakuan	3	161,13	53,71	3,28	3,24	5,29
Error (Galat)	16	261,90	16,37			
TOTAL	19	423,034375	70,08			

c. Uji Duncan Multiple Range Test (DMRT)

Nilai UJD 5%

p	2	3	4	5
sd	2,02	2,02	2,02	2,02
ssr5%	3,00	3,15	3,23	3,30
nilai dmrt	6,07	6,37	6,53	6,68

Perlakuan	Rata-rata	TJ	TB	TTK	TT	Notasi
TJ	9,45	0,00	0,00	0,00	0,00	a
TB	9,40	0,05	0,00	0,00	0,00	a
TTK	3,85	5,60	5,55	0,00	0,00	a
TT	3,65	5,80	5,75	0,20	0,00	a
		6,68	6,53	6,37	6,07	
	p	5	4	3	2	

Lampiran 3. Data daya hambat *Bacillus sp.* setelah diformulasi

- a. Data pengamatan daya hambat *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* pada 56 hsi.

Rep	Perlakuan				
	Tepung Beras	Tepung jagung	Tepung Tapioka	Tepung Talk	
1	33,45	41,6	42,4	34,6	152,05
2	41,2	38,4	41,1	34,5	155,2
3	35,95	28	40	31	134,95
4	35,3	29,9	38,7	28,7	132,6
5	49,1	31,8	35	29,2	145,1
Jumlah	195	169,7	197,2	158	719,9
Rata-rata	39	33,94	39,44	31,6	143,98

- b. Data transformasi daya hambat *Bacillus sp.* terhadap *Colletotrichum sp.* pada 56 hsi.

Rep	Perlakuan				
	Tepung Beras	Tepung jagung	Tepung Tapioka	Tepung Talk	
1	35,34	40,16	40,63	36,03	152,16
2	39,93	38,29	39,87	35,97	154,07
3	36,84	31,95	39,23	33,83	141,85
4	36,45	33,15	38,47	32,39	140,46
5	44,48	34,33	36,27	32,71	147,79
Jumlah	193,04	177,88	194,47	170,94	736,33
Rata-rata	38,61	35,58	38,89	34,19	147,27

- c. Analisis Ragam (ANOVA)

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	3	79,91	26,64	3,35	3,24	5,29
Error	16	127,07	7,94			
TOTAL	19	206,98				

- d. Uji Duncan Multiple Range Test (DMRT)

Nilai UJD 5%

P	2	3	4	5
sd	1,41	1,41	1,41	1,41
ssr5%	3,00	3,15	3,23	3,30
nilai dmrt	4,23	4,44	4,55	4,65

Perlakuan	Rata-rata	TT	TB	TJ	TTK	Notasi
		38,89	38,61	35,58	34,19	
TT	38,89	0,00	0,00	0,00	0,00	a
TB	38,61	0,28				a
TJ	35,58	3,31	3,03	1,39	0,00	a
TTK	34,19	4,71	4,42	1,39	0,00	ab
		4,65	4,55	4,44	4,23	
	p	5	4	3	2	

Lampiran 4. Dokumentasi penelitian



Uji antagonis terhadap *Xag*



Menghitung koloni *Bacillus sp.*



Penggojok



Pengenceran



Uji antagonis terhadap *Colletotrichum sp.*



Uji gram



Plating



Persiapan pengenceran



Pengeplongan jamur
Colletotrichum sp.

