



**Prosiding Seminar Nasional Pertanian Pesisir (SENATASI) Jurusan  
Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu  
Bengkulu, November 2023**

**UJI ANTAGONIS *Bacillus* spp. DAN *Pseudomonas* KELOMPOK  
FLUORESCENS DALAM MENGHAMBAT PERKEMBANGAN CENDAWAN  
*Sclerotium rolfsii* PENYEBAB BUSUK BATANG PADA TANAMAN KACANG  
TANAH**

*Antagonistic Test of *Bacillus* spp and *Pseudomonas* fluorescens group in inhibiting the development of the fungus *Sclerotium rolfsii* causes stem rot in peanut plants*

**Siti Desiana Ramadhaniar<sup>1\*</sup>, Noor Aidawati<sup>1</sup>, Mariana<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup>Program Studi Proteksi Tanaman, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat

\*Corresponding author : [desianafapertaulm@gmail.com](mailto:desianafapertaulm@gmail.com)

**ABSTRAK**

Kacang tanah merupakan tanaman pangan yang mengandung lemak dan protein, serta bernilai ekonomi yang tinggi. Salah satu kendala dalam peningkatan produksi tanaman kacang tanah adalah adanya serangan penyakit busuk batang yang disebabkan oleh cendawan *Sclerotium rolfsii*. Teknik pengendalian alami dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan agen antagonis yang didapatkan dari tanah bagian rizosfer perakaran tanaman, agen antagonis berfungsi untuk mengurangi dampak negatif penggunaan fungisida yang memiliki dampak buruk bagi lingkungan dan kesehatan. Oleh karena itu, tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan isolat rizobakteria *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang berasal dari rizosfer tanaman bambu, tanaman pakis, rumput gajah, dan tanaman kacang tanah dalam menghambat perkembangan *S. rolfsii* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan, kontrol. Bakteri *Bacillus* spp di isolasi menggunakan media *Nutrient Agar* (NA) dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* di isolasi menggunakan media selektif Kings'B. Pengamatan mulai dilakukan setelah patogen dan agen hayati diinkubasi pada cawan petri selama 4 hari, dan berakhir jika pertumbuhan isolat perlakuan kontrol patogen sudah memenuhi cawan petri. Data yang didapatkan kemudian dimasukkan ke dalam rumus daya hambat (DH). Pengukuran daya hambat dilakukan setelah masa inkubasi agens hayati berumur 7 hari pada media NA. Hasil penelitian menunjukkan isolat *Bacillus* spp dan isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* mampu menghambat perkembangan cendawan *S. rolfsii* dengan daya hambat yang berbeda-beda. Isolat *Bacillus* spp PPBc (berasal dari akar tanaman Pakis) merupakan isolat *Bacillus* spp yang persentase daya hambatnya paling tinggi yaitu 63,33%, sedangkan persentase daya hambat paling tinggi pada isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* adalah isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* PKTPf (berasal dari akar tanaman kacang tanah) yaitu sebesar (54,58%).

---

Kata Kunci : *Bacillus* spp, Busuk batang, *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*, *Sclerotium rolfsii*, Tanaman kacang tanah

## ABSTRACT

Groundnut is a food crop that contains fat and protein and has high economic value. One of the obstacles in increasing groundnut crop production is the stem rot disease caused by the *Sclerotium rolfsii* fungus. Natural control techniques can be done by utilizing antagonistic agents obtained from the soil of the rhizosphere of plant roots. Antagonistic agents function to reduce the negative impact of using fungicides, which have a negative impact on the environment and health. Therefore, the purpose of this study was to determine the ability of isolates of the rhizobacteria *Bacillus* spp and *Pseudomonas fluorescens* group derived from the rizosphere of bamboo plants, fern plants, elephant grass, and peanut plants to inhibit the development of *S. rolfsii* in vitro. This study used a completely randomized design (CRD) consisting of five treatments and a control. *Bacillus* spp. bacteria were isolated using Nutrient Agar (NA) media, and the *Pseudomonas fluorescens* group was isolated using Kings'B selective media. Observations began after pathogens and biological agents were incubated in petri dishes for 4 days, and ended when the growth of pathogen control treatment isolates filled the petri dishes. The data obtained were then entered into the inhibition formula (IF). Measurement of inhibition was carried out after the incubation period of biological agents aged 7 days on NA media. The results showed that isolates of *Bacillus* spp. and isolates of the *Pseudomonas fluorescens* group were able to inhibit the development of *S. rolfsii* fungi with different inhibitory powers. *Bacillus* spp. isolate PPBC (derived from fern plant roots) is a *Bacillus* spp isolate with the highest percentage of inhibition at 63.33%, while the highest percentage of inhibitory power in *Pseudomonas fluorescens* group isolates is *Pseudomonas fluorescens* group PKTPf (derived from peanut plant roots), which is 54.58%.

---

Key word : *Bacillus* spp, stem rot, *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*, *Sclerotium rolfsii*, Peanut plants

## PENDAHULUAN

Kacang tanah merupakan tanaman pangan yang mengandung lemak dan protein, serta bernilai ekonomi yang tinggi. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) Kalimantan Selatan (2021), hasil produksi kacang tanah paling tinggi terdapat di daerah Kabupaten Banjar dengan kontribusi sebesar 38% (1.322 ton) dibandingkan dari produksi kacang tanah kabupaten lain. Meskipun kontribusi hasil produksi kacang tanah Kabupaten Banjar lebih tinggi, akan tetapi dilihat dari perkembangan produksi kacang tanah tahun sebelumnya mengalami penurunan yaitu sebesar 72% (3.340 ton). Salah satu kendala dalam peningkatan produksi tanaman kacang tanah adalah adanya serangan penyakit. Penyakit terpenting pada tanaman kacang tanah adalah penyakit busuk batang yang disebabkan oleh cendawan *Sclerotium rolfsii*. Penyakit lanjut dari busuk batang ini dapat menurunkan hasil produksi panen karena kacang tanah yang tumbuh hanya sedikit dan berukuran tidak normal seperti umumnya tanaman kacang tanah yang sehat.

Menurut Timper *et al.* (2001) penyakit busuk batang kacang tanah mengakibatkan turunnya produksi tanaman kacang tanah yang akan di panen.Teknik pengendalian alami dapat dilakukan dengan cara memanfaatkan agen antagonis yang didapatkan dari tanah bagian rizosfer perakaran tanaman, agen antagonis berfungsi untuk mengurangi dampak negatif penggunaan fungisida yang memiliki dampak buruk bagi lingkungan dan kesehatan.Menurut Soesanto *et al.* (2003) bakteri *Pseudomonas* mampu menekan perkembangan sklerotium yang disebabkan oleh cendawan *S. rolfsii* secara *in vitro* sebesar 92% dan menurunkan populasi sklerotium akhir sebesar 86,3%. Hasil penelitian Khaeruni *et al.* (2010) kemampuan daya hambat bakteri *Bacillus* spp. terhadap *S. rolfsii* cukup tinggi secara *in vitro* menunjukkan bahwa isolat bakteri antagonis memiliki enzim ekstraseluler seperti kitin, protease, dan selulase.

## METODE PENELITIAN

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diuji adalah kemampuan isolat *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dalam menghambat perkembangan isolat *Sclerotium rolfsii*. Isolat yang digunakan di isolasi dari sampel tanah perakaran tanaman bambu (isolat berasal dari koleksi Mustika Aini), rizosfer tanaman pakis (isolat berasal dari koleksi Kiki Nursiah), rizosfer tanaman rumput gajah (isolat berasal dari koleksi Mustika Aini), dan rizosfer tanaman kacang tanah (berasal dari Desa Kurnia Kecamatan Landasan Ulin) dengan titik koordinat (Lat-3.466372° Long 114.704866°).

### **Perlakuan Isolat *Bacillus* spp**

A = PKTBc (Perakaran Kacang Tanah

*Bacillus*) B = PBBc (Perakaran Bambu

*Bacillus*)

C = PPBc (Perakaran Pakis *Bacillus*)

D = PRGBc (Perakaran Rumput Gajah

*Bacillus*) E = Kontrol *Sclerotium rolfsii*

### **Perlakuan Isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens***

A = PKTPf (Perakaran Kacang Tanah *Pseudomonas* kelompok

*fluorescens*) B = PBPf (Perakaran Bambu *Pseudomonas* kelompok

*fluorescens*)

C = PPPf (Perakaran Pakis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*)

D = PRGPf (Perakaran Rumput Gajah *Pseudomonas* kelompok

*fluorescens*) E = Kontrol *Sclerotium rolfsii*

Dalam penelitian ini terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan, didapatkan 20 unit satuan percobaan. Setiap unit masing-masing *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* sebanyak 20 unit satuan percobaan. Sehingga jumlah agen antagonis keseluruhan yang diujikan sebanyak 40 unit satuan percobaan.

## Prosedur Penelitian

Semua alat gelas yang akan digunakan untuk penelitian dicuci terlebih dahulu menggunakan air bersih dan dikeringkan. Kemudian dibungkus menggunakan kertas. Untuk alat yang berupa tabung dan botol kaca pada bagian mulutnya disumbat menggunakan kapas, kemudian dibungkus menggunakan kertas. Setelah itu, semua alat dimasukkan dengan rapi ke dalam oven. Proses sterilisasi kering menggunakan oven berlangsung selama satu jam pada suhu 170°C.

Media yang digunakan dalam pertumbuhan cendawan *Sclerotium rolfsii* adalah media *Potato Dextrose Agar* (PDA), komposisi pembuatan media PDA dan cara pembuatannya adalah dengan menyiapkan 200 g kentang, 20 g dextrose, 20 g agar, dan 1 liter (1.000 ml) air akuades. Langkah pertama yaitu mengupas kentang dan dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih, kemudian dipotong kecil-kecil berbentuk dadu dan direbus sampai empuk kedalam 1 liter air, setelah itu air rebusan kentang diambil menggunakan saringan dan diukur kembali dengan gelas beker. Jika hasil rebusan kurang dari 1 liter, bisa ditambahkan kembali akuades serta campuran dextrose sebanyak 20 g dan agar-agar 20 g hingga 1 liter. Setelah itu, panaskan kembali dengan api sedang dan diaduk hingga homogen. Setelah semua bahan terlarut, tuang kedalam botol kaca lalu ditutup menggunakan *alumunium foil* serta *cling wrap*. Media PDA yang sudah jadi, kemudian disterilisasi basah kembali menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Kemudian beri label pada botol dan diamkan selama 24 jam hingga media PDA memadat.

Komposisi pembuatan media NA untuk menumbuhkan *Bacillus* spp. yaitu menggunakan 3 g *beef extract*, 5 g pepton, 20 g agar, 2,5 g glukosa, dan 1.000 ml air akuades. Cara pembuatan media NA yaitu dengan memisahkan akuades menjadi dua bagian. Akuades pertama sebanyak 500 ml dimasukkan kedalam gelas beker kemudian dipanaskan, selanjutnya dimasukkan 20 g agar aduk hingga merata. Akuades kedua dimasukkan kedalam gelas beker yang lain sebanyak 500 ml, kemudian dimasukkan (*beef extract*, pepton, dan glukosa). Panaskan dan aduk secara merata. Kedua campuran digabungkan diaduk merata dan dipanaskan. Media yang sudah tercampur dan merata kemudian dimasukkan ke dalam botol kaca. Botol kaca yang berisi media ditutup menggunakan *alumunium foil* dan *cling wrap*, kemudian disterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Media digunakan untuk menumbuhkan bakteri *Bacillus* spp.

Komposisi pembuatan media King's B menggunakan glycerol sebanyak 15 ml, 20 g pepton, 20 g agar, 0,5 g potassium dihydrogen phosphate ( $K_2HPO_4$ ), 0,25 g Magnesium sulphate ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ), dan 1.000 ml air akuades. Cara pembuatan media ini yakni, panaskan akuades sebanyak 200 ml, dan masukkan 20 g agar kedalam gelas beker kemudian aduk hingga merata. Masukkan kembali 800 ml akuades yang sudah disiapkan di dalam gelas beker yang berisi bahan (glycerol sebanyak 15 ml, 20 g pepton, 0,5 g  $K_2HPO_4$ , dan 0,25 gram  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ). Aduk dan panaskan semua bahan yang telah dicampurkan pada gelas beker. Campurkan larutan agar kedalam gelas beker kedua aduk kembali hingga homogen. Media yang sudah selesai dibuat dimasukkan kedalam botol kaca dan tutup menggunakan *alumunium foil* dan *cling wrap*, setelah

itu sterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 30 menit. Kemudian beri label pada botol dan diamkan selama 24 jam hingga media King's B memadat.

### Pelaksanaan Penelitian

*Sclerotium rolfsii* di isolasi dari perakaran kacang tanah yang bergejala busuk batang dan terdapat tanda pertumbuhan sklerotia, kemudian dipotong menggunakan gunting yang sudah disterilkan terlebih dahulu dengan alkohol 70%. Setelah itu, celup bagian batang yang bergejala ke dalam NaOCl 3% lalu digoyang-goyangkan selama ± 1 menit menggunakan pinset. Kemudian bilas hasil potongan tadi dengan cara mencelupkan potongan batang ke dalam tiga cawan berisi akuades steril selama 5 detik, lalu keringkan potongan batang menggunakan tisu steril. Setelah itu, potong batang menggunakan gunting menjadi tiga bagian. Selanjutnya ambil potongan batang menggunakan pinset dan diletakkan pada media PDA untuk diinkubasi.

Hasil pertumbuhan miselium cendawan dari potongan batang kacang tanah yang diinkubasi, kemudian diambil menggunakan jarum ent dan diletakkan pada posisi tengah cawan petri berisi media PDA baru. Kemudian inkubasi kembali sampai pertumbuhan cendawan memenuhi permukaan cawan petri hingga mengeluarkan sklerotia berwarna putih hingga kecoklatan. Sklerotia yang berwarna coklat diambil menggunakan pinset yang sudah disterilkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 70%. Lalu letakkan pada media PDA yang baru. Proses pemindahan sklerotia ini dilakukan untuk mendapatkan pertumbuhan cendawan *S. rolfsii* yang benar-benar murni.

Sampel rizobakteria berasal dari tanah akar tanaman bambu (berasal dari isolat koleksi laboratorium fitopatologi milik Mustika Aini), tanaman pakis (berasal dari isolat koleksi laboratorium fitopatologi milik Kiki Nursiah), rumput gajah (berasal dari isolat koleksi laboratorium fitopatologi milik Mustika Aini), dan tanah perakaran kacang tanah yang sehat (berasal dari Cindai Alus). Tanah diambil beserta akar tanaman pada bagian rizosfer untuk mendapatkan isolat bakteri *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* sebagai agen hayati pengendali cendawan *S. rolfsii*.

Isolasi *Bacillus* spp. hanya dilakukan terhadap sampel dari perakaran kacang tanah, sedangkan *Bacillus* spp dari tanah bagian rizosfer tanaman bambu, tanaman pakis, dan rumput gajah sudah di isolasi dan di simpan dalam bentuk media cair dan merupakan koleksi Laboratorium Fitopatologi. Perbanyak isolat tersebut dilakukan dengan mengambil 1 (satu) ose suspensi dan diioreskan pada media NA. Isolat *Bacillus* spp. tersebut yang digunakan untuk uji antagonis. Sampel tanah dari rizosfer kacang tanah ditimbang sebanyak 10 gram dengan menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan kedalam botol kaca yang berisi 90 ml buffer fosfat dan dihomogenkan menggunakan *orbital shaker* selama 30 menit. Larutan diambil menggunakan mikropipet sebanyak 2 ml dan dimasukkan kedalam tabung eppendorf, kemudian dipanaskan didalam *water bath* pada suhu 80°C selama 30 menit. Larutan yang sudah dipanaskan diambil menggunakan mikropipet sebanyak 50 µl dan dimasukkan ke media NA, kemudian diratakan menggunakan segitiga perata hingga kesat. Inkubasi dilakukan selama 48 jam. Selanjutnya koloni bakteri yang tumbuh berwarna krem kecoklatan

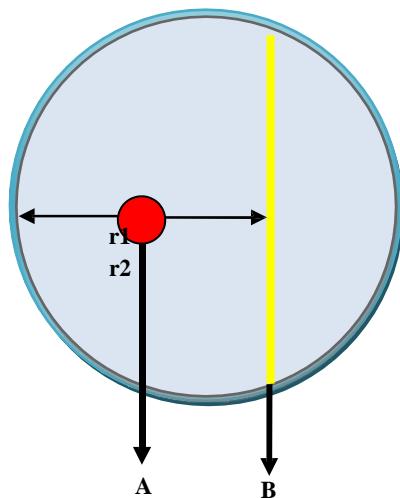
diambil 1 ose, kemudian dipindahkan pada media NA yang baru dengan cara digores. Setelah itu, bakteri *Bacillus* spp. di uji gram menggunakan KOH 3%.

Isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* hanya dilakukan terhadap sampel dari perakaran kacang tanah, sedangkan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dari tanah bagian rizosfer tanaman bambu, tanaman pakis, dan rumput gajah sudah di isolasi dan disimpan dalam bentuk media cair dan merupakan koleksi Laboratorium Fitopatologi. Perbanyak isolat tersebut dilakukan dengan mengambil 1 (satu) ose suspensi dan digoreskan pada media King's B. Isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* tersebut yang digunakan untuk uji antagonis. Tanah yang berasal dari rizosfer tanaman kacang tanah ditimbang sebanyak 10 gram menggunakan neraca analitik, kemudian dimasukkan kedalam botol kaca berisi 90 ml *buffer fosfat* dan ditutup menggunakan *alumunium foil* dan *cling wrap*. Botol kaca kemudian diletakan pada *orbital shaker* selama 30 menit. Selanjutnya larutan hasil *orbital shaker* tersebut dilakukan pengenceran dengan tingkat pengenceran sebanyak  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-9}$ . Masing-masing suspensi pengenceran diambil sebanyak 50  $\mu\text{l}$  menggunakan mikro pipet dan disebarluaskan pada media King's B. Ratakan menggunakan segitiga perata hingga kesat. Kemudian tutup cawan petri dan *cling wrap*. Inkubasi dilakukan selama 48 jam dan amati koloni bakteri yang tumbuh menggunakan sinar lampu ultraviolet (UV). Koloni yang tumbuh berpendar (*fluorescent*). Selanjutnya, dipindahkan bakteri pada media King's B yang baru untuk dimurnikan dengan cara mengambil 1 (satu) ose bakteri dan mengoreskan pada media King's B yang baru. Kemudian bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* di uji gram menggunakan KOH 3%.

Pengujian gram dilakukan untuk mengetahui sifat dari bakteri *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* termasuk golongan positif atau golongan bakteri gram negatif. Uji gram dilakukan dengan cara meletakkan isolat bakteri ke atas *slide glass*, kemudian ditetes dengan larutan KOH 3%. Aduk perlahan menggunakan jarum ose selama  $\pm 1$  menit. Setelah itu angkat jarum ose. Apabila tidak menghasilkan lendir berarti termasuk kedalam bakteri gram positif (*Bacillus* spp). Jika menghasilkan lendir maka termasuk golongan bakteri gram negatif (*Pseudomonas* kelompok *fluorescens*).

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui bagaimana kemampuan beberapa jenis rizobakteria dari golongan *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dalam menekan pertumbuhan *Sclerotium rolfsii*. Uji antagonis secara *in vitro* ini dilakukan sebagai berikut:

1. Meletakkan isolat antagonis *Bacillus* spp. terlebih dahulu pada media NA dan diinkubasi selama 72 jam. Setelah itu, ambil sklerotia dari cendawan *Sclerotium rolfsii* kemudian diletakkan pada bagian berlawanan dengan antagonis *Bacillus* spp.
2. Meletakkan isolat antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* terlebih dahulu pada media NA dan diinkubasi selama 72 jam. Setelah itu, ambil sklerotia dari cendawan *Sclerotium rolfsii* kemudian diletakkan pada bagian berlawanan dengan antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*.



Gambar 1. Cara meletakkan kedua isolat dalam cawan petri. Keterangan A. Isolat patogen; B. Isolat bakteri antagonis

### Variabel yang diamati

Pengamatan mulai dilakukan setelah patogen dan agen hayati diinkubasi pada cawan petri selama 4 hari, dan berakhir jika pertumbuhan isolat perlakuan kontrol patogen sudah memenuhi cawan petri. Untuk data yang didapatkan kemudian dimasukkan ke dalam rumus daya hambat (DH). Pengukuran daya hambat dilakukan setelah masa inkubasi agens hayati berumur 7 hari pada media NA.

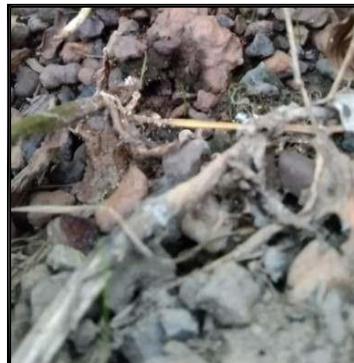
### Analisis Data

Data hasil yang diperoleh dari pengamatan uji antagonis secara *in vitro* dianalisis menggunakan uji kehomogenan ragam Bartlett dan dilanjutkan dengan *Analysis of Variances* (ANOVA). Perlakuan yang berbeda sangat nyata dilanjutkan perhitungan Uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf  $\alpha = 5\%$ .

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### **Isolasi Cendawan *Sclerotium rolfsii* pada Tanaman Kacang Tanah**

Tanaman kacang tanah yang terinfeksi menunjukkan gejala kering dan keriput pada batang disertai munculnya miselium berwarna putih keluar dari butiran sclerotia (Gambar 2) busuk batang diambil dari Desa Cindai Alus Kabupaten Banjar.



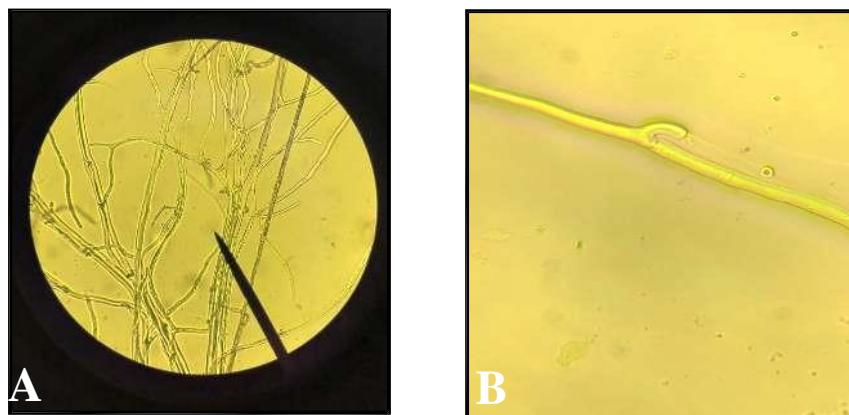
Gambar 2. Tanaman kacang tanah yang terinfeksi *S. rolfsii*

Hasil isolasi pada media PDA menunjukkan adanya cendawan yang tumbuh pada potongan pangkal batang tersebut. Pemurnian cendawan selanjutnya dilakukan dengan mengambil miselium cendawan dan meletakkan pada media PDA yang baru. Hasil pemurnian menunjukkan miselium tumbuh dan menghasilkan sklerotia berbentuk bulat dan berwarna putih hingga kecoklatan (Gambar 3).



Gambar 3. Skelerotia tumbuh pada media PDA

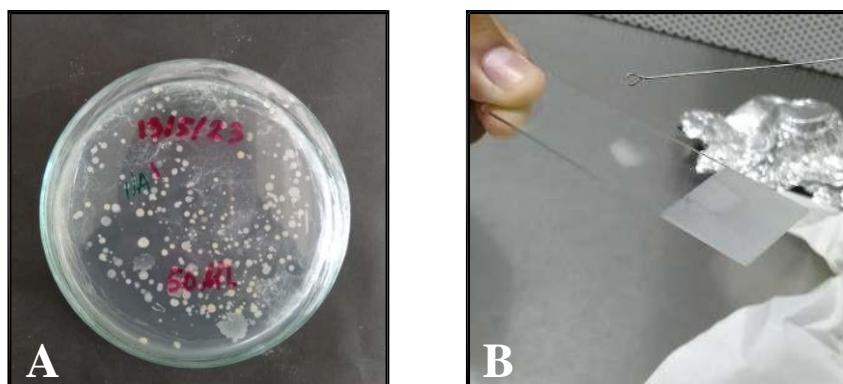
Identifikasi cendawan dilakukan menggunakan media kubus. Hasil pengamatan secara mikroskopis menunjukkan adanya percabangan hifa membentuk sudut  $<90^\circ$  (Gambar 4 A) dan memiliki *clamp connection* pada bagian penghubung antar hifa (septa) (Gambar 4 B). Menurut identifikasi pada buku Watanabe (2002), karakteristik cendawan seperti penjelasan di atas merupakan karakteristik dari cendawan *S. rolfsii*. Hasil identifikasi ini menunjukkan penyebab penyakit busuk batang pada tanaman kacang tanah disebabkan oleh patogen *S. rolfsii*.



Gambar 4. Identifikasi penyebab busuk pangkal batang tanaman kacang tanah. A. Hifa dan septa membentuk sudut  $<90^\circ$ ; B. *clamp connection*

### Isolasi Rizobakteria *Bacillus* spp

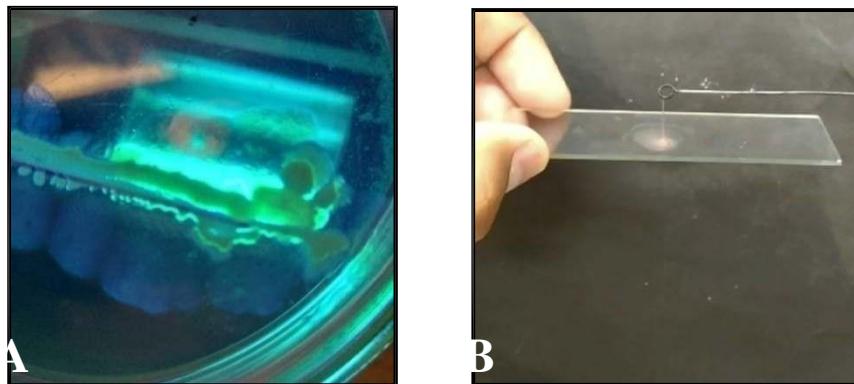
Rizobakteria tahan panas (*Bacillus* spp.) berhasil di isolasi dari tanah perakaran kacang tanah. Koloni yang tumbuh pada media NA berwarna kream dan memiliki bentuk tepi tidak rata (Gambar 5 A) dan hasil uji Gram menunjukkan koloni bakteri yang diberi tetesan KOH 3% tidak mengental (Gambar 5 B). Hal ini menunjukkan isolat bakteri tersebut merupakan bakteri Gram positif. Menurut Schaad (2001), bakteri yang tahan panas dan kelompok Gram positif adalah bakteri dari kelompok *Bacillus* spp. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat rizobakteri yang diisolasi merupakan *Bacillus* spp.



Gambar 5. Bentuk koloni dan hasil uji KOH 3% *Bacillus* spp. A. Hasil isolasi *Bacillus* spp; B. Hasil uji gram positif menggunakan KOH 3%

### Isolasi Rizobakteria *Pseudomonas fluorescens*

Rizobakteria *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* berhasil diisolasi dari perakaran tanah tanaman kacang tanah. Koloni bakteri yang tumbuh pada media King's B berwarna hijau dan berpendar (*fluorescens*) ketika dilihat di atas lampu ultra violet (UV) (Gambar 6 A) hasil uji Gram menggunakan larutan KOH 3% menunjukkan terjadi penggumpalan seperti lendir dan ketika diangkat dengan jarum ose, maka lendir tersebut terangkat seperti benang (Gambar 6 B). Menurut Schaad (2001), bakteri yang koloninya menunjukkan warna hijau *fluorescens* pada media King's B ketika diamati menggunakan lampu UV dan saat uji gram menunjukkan gram negatif, merupakan kelompok bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*.



Gambar 6. Bentuk Koloni dan Hasil Uji KOH 3% *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*. A. Pengamatan bakteri antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* di atas sinar UV; B. Hasil uji gram negatif menggunakan KOH 3%

#### **Uji Antagonis *Bacillus* spp Terhadap Cendawan *Sclerotium rolfsii***

Hasil uji antagonis isolat *Bacillus* spp dengan *S. rolfsii* menunjukkan bahwa isolate *Bacillus* spp mampu menghambat perkembangan cendawan *S. rolfsii* (Gambar 7). Hasil uji kehomogenan data persentase daya hambat isolat bakteri *Bacillus* spp. terhadap cendawan *S. rolfsii* menunjukkan bahwa data homogen. Hasil uji *Analysis of Variances* (ANOVA) menunjukkan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Oleh karena koefisien data keragamannya di atas 20% yaitu sebesar (27,13%), maka data ditransformasi dengan SQRT (x).

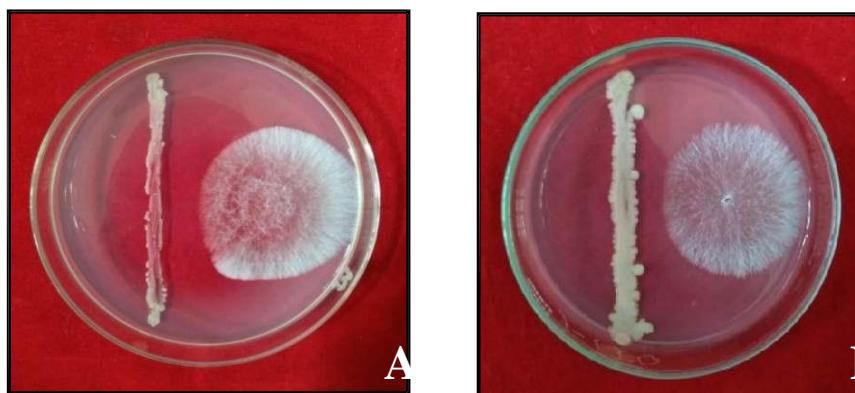
Uji nilai tengah *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menunjukkan isolat *Bacillus* spp. perakaran kacang tanah (PKTBc), perakaran bambu (PBBc), perakaran pakis (PPBc), dan perakaran rumput gajah (PRGBc) berbeda sangat nyata dan ke empat isolat tersebut mempunyai kemampuan daya hambat yang berbeda (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata Persentase Daya Hambat *Bacillus* spp

Perlakuan	Nilai tengah Persentase daya hambat (%)
<i>Bacillus</i> spp. PKTBc <i>Bacillus</i>	21,35 c
<i>Bacillus</i> spp. PBBc <i>Bacillus</i>	6,89 a
<i>Bacillus</i> spp. PPBc <i>Bacillus</i>	63,32 d
<i>Bacillus</i> spp. PRGBc <i>Bacillus</i>	42,1 c

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Isolat bakteri *Bacillus* spp yang memiliki daya hambat tertinggi yaitu dari tanaman pakis (PPBc) dengan daya hambat 63,33% (Tabel 1; Gambar 7 A) dan isolat *Bacillus* spp dari tanaman rumput gajah (PRGBc) dengan daya hambat sebesar 42,1% (Tabel 1; Gambar 7 B) terhadap cendawan *S. rolfsii*. Isolat *Bacillus* spp. dari tanaman kacang tanah dan bambu mempunyai daya hambat yang kecil yaitu daya hambat berkisar 6,89% untuk isolat (PBBc) dan 21,36% daya hambat dari isolat (PKTBc).



Gambar 7. Pengujian Daya Hambat *Bacillus* spp terhadap *Sclerotium rolfsii*. A. *Bacillus* spp asal pakis (PPBc); B. *Bacillus* spp. asal tanaman rumput gajah (PRGBc)

#### **Uji Antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* Terhadap Cendawan *Sclerotium rolfsii***

Hasil uji kehomogenan data dari persentase daya hambat isolat bakteri antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* terhadap cendawan *S. rolfsii* menunjukkan bahwa data homogen. Hasil uji *Analysis of Variances* (ANOVA) menunjukkan perlakuan berpengaruh sangat nyata. Oleh karena koefisien data diatas 20% maka data ditransformasi dengan SQRT (x).

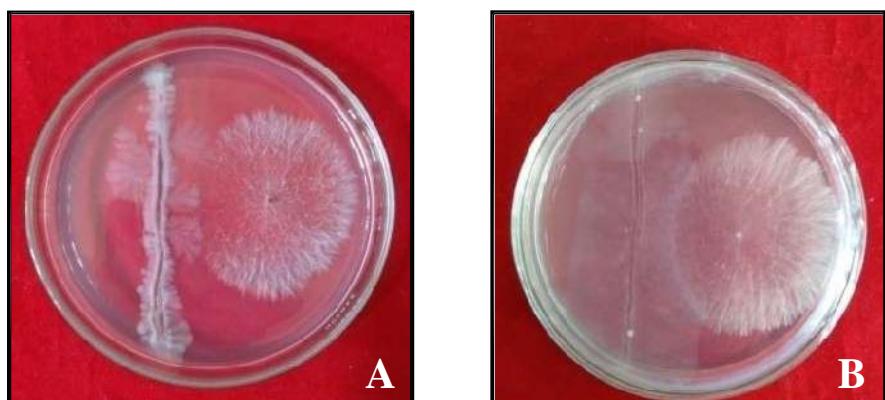
Uji nilai tengah *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menunjukkan isolat PF perakaran tanaman pakis (PPPf) berbeda nyata dengan perlakuan PF perakaran kacang tanah (PKTPf) dan PF perakaran rumput gajah (PRGPf), tetapi PF rumput gajah tidak berbeda nyata dengan perlakuan PF tanaman bambu (PBPf) dalam menghambat perkembangan *S. rolfsii* (Tabel 2).

Tabel 2. Rata-rata Persentase Daya Hambat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*

Perlakuan	Nilai tengah Persentase daya hambat (%)
<i>Pseudomonas</i> PKTPf	54,58 c
<i>Pseudomonas</i> spp. PBPf	41,45 bc
<i>Pseudomonas</i> spp. PPPf	19,25 a
<i>Pseudomonas</i> spp. PRGPf	29,31 ab

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom tidak berbeda nyata pada taraf 5%

Persentase daya hambat bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* terhadap *S. rolfsii* berkisar 19,25% sampai 54,58%. *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang berasal dari perakaran tanaman kacang tanah (PKTPf) memiliki daya hambat sebesar 54,58% dan memiliki daya hambat tertinggi (Gambar 8 A) dan isolat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang berasal dari perakaran bambu (PBPf) memiliki daya hambat sebesar 41,46% dalam menghambat *S. rolfsii* (Gambar 8 B).



Gambar 8. Pengujian Daya Hambat *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* terhadap *S. rolfsii*. A. *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* asal kacang tanah (PKTPf); B. *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* asal tanaman bambu (PBPF).

Penyebab busuk pangkal batang yang didapatkan pada tanaman kacang tanah memiliki gejala yang spesifik pada bagian pangkal batang seperti mengering dan berwarna coklat serta layu pada bagian daun tanaman tua hingga tajuk daun muda yang dapat menghambat jaringan xilem dalam mengangkut air dan unsur hara proses fotosintesis pada tanaman kacang tanah. Hifa cendawan *Sclerotium rolfsii* dapat mengeluarkan enzim selulolitik dan asam oksalat yang membuat jaringan tanaman kacang tanah menjadi lunak kemudian mati (Papuangan, 2009).

Menurut Timper *et al* (2001), Pada lingkungan mendukung cendawan patogen *Sclerotium rolfsii* mampu membentuk miselium berwarna putih pada pangkal batang dan permukaan tanah, miselium berkembang menjadi butiran berwarna putih dan berukuran bulat kecil kemudian berubah menjadi warna coklat. Agens hayati *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang di isolasi dari perakaran tanaman dan lokasi yang berbeda mampu menghambat perkembangan cendawan *S. rolfsii* secara *in vitro* (Tabel 1 dan Tabel 2). Agens hayati *Bacillus* spp dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* menghasilkan antibiotik dan enzim, hal ini terlihat dari tidak berkembangnya cendawan ke arah adanya agens hayati (Gambar 7 dan Gambar 8).

Menurut Tariq *et al* (2017), genus bakteri antagonis seperti *Bacillus* dan *Pseudomonas* secara khusus dapat menghancurkan sel patogen dengan memproduksi antibiotik, bakteriosin, serta enzim litik. Senyawa antibiotik yang dihasilkan agens hayati memberikan efek membunuh dan menghambat terhadap patogen tanaman dengan cara mengganggu pembentukan dinding sel patogen saat miselium tumbuh, merusak fungsi membran plasma, dan menghambat sintesis protein (Walker 2001; Leclere *et al.*, 2005).

Kemampuan daya hambat rizobakteria berbeda-beda pada setiap perlakuan dalam menekan perkembangan *S. rolfsii* secara *in vitro* dipengaruhi oleh adanya senyawa antibiotik dan anti jamur yang dihasilkan oleh bakteri antagonis. Zona hambat terbentuk pada media karena adanya senyawa aktif yang dihasilkan *Bacillus*, senyawa antifungi yang dihasilkan bakteri antagonis membuat hifa cendawan tumbuh abnormal sehingga tidak mampu berkembang dengan sempurna.

Terbentuknya zona bening yang dihasilkan oleh bakteri *Bacillus* spp membuat perkembangan miselium cendawan *S. rolfsii* terhambat. Pertumbuhan sklerotia dapat terhambat

selaras dengan perkembangan tumbuhnya miselium cendawan. Menurut Stein (2005), *Bacillus* spp menghasilkan senyawa antibiotik fengycin dan bacillomycin sebagai antifungal serta senyawa peptid antibiotik lainnya yang mampu membuat zona bening pada media *in vitro*.

Bakteri antagonis *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* memiliki senyawa antibiotik yang bersifat toksik terhadap patogen yaitu senyawa pyoluteorin dan pyrrolnitrin (Addy, 2007). Senyawa antibiotik pada bakteri berfungsi untuk menekan perkembangan patogen tanaman. Bakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* mengandung mengandung siderofor dan dapat menghasilkan warna hijau berpendar saat dilihat menggunakan sinar ultraviolet (UV).

Mekanisme daya hambat bakteri *Pseudomonas* membentuk zona bening pada media didalam cawan petri yang disebabkan oleh aktifitas enzim. Enzim kitinase yang dihasilkan oleh bakteri dapat menghambat perkembangan dan mendegradasi dinding sel patogen tanaman. Sesuai dengan pernyataan Dewi *et al* (2020), agens hayati menghasilkan enzim yang dapat mendegradasi dinding sel patogen sehingga mengakibatkan mekanisme lisis secara langsung terhadap patogen tanaman serta mampu menghasilkan senyawa antibiotik dan volatil.

Berdasarkan hasil penelitian, daya hambat tertinggi terhadap patogen *S. rolfsii* secara *in vitro* dihasilkan oleh perlakuan bakteri *Bacillus* spp asal tanaman pakis (PPBc). Menurut laporan Wulff (2002), bakteri *Bacillus subtilis* dan *Bacillus amyloliquefaciens* di isolasi dari rizosfer tanaman pakis menunjukkan aktivitas antagonis dan menghasilkan metabolit sekunder seperti surfaktin, liturin, bacillomycine, dan stenothricin yang dapat menginduksi pertumbuhan cendawan dan aktivitas antagonis terhadap patogen tanaman. Sesuai dengan pendapat Sen (2018), isolasi bakteri antagonis perakaran pakis dilakukan berdasarkan kehadiran strain bakteri antagonis *Bacillus subtilis* dan *Bacillus amyloliquefaciens* pada rizosfer pakis yang membuat tanaman ini tahan terhadap patogen, pakis umumnya berstruktur keras dan tumbuh subur pada iklim ekstrem. Tanaman pakis dapat meningkatkan kandungan total mikroba antagonis dalam tanah, sehingga tanaman disekitar pakis tumbuh sehat.

## KESIMPULAN

Berdasarkan dari hasil penelitian dapat diambil kesimpulan yaitu bakteri antagonis *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang diambil dari masing-masing rhizosfer tanaman dapat menekan cendawan *Sclerotium rolfsii* secara *in vitro*.

## SANWACANA

Ucapan terima kasih disampaikan kepada: Dr. Ir. Noor Aidawati, M.Si dan Dr. Ir. Hj. Mariana, M.P. yang telah membimbing dan memberikan saran selama penelitian serta pada semua pihak yang telah membantu hingga penelitian ini selesai.

## DAFTAR PUSTAKA

- Addy, H. S. (2007). Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan *Erwinia carotovora* oleh *Pseudomonas* Pendarfluor Secara *In Vitro*. *Jurnal HPT Tropika*. 7(2).
- Agrios, G.N. (1997). *Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Edisi Ketiga. Universitas Gadjah Mada Press. Yogyakarta.
- Balitkabi (Balai Penelitian Tanaman Aneka Kacang dan Umbi). (2005) *Teknologi Produksi Kacang-kacangan dan Umbi-umbian*. Balitkabi. Malang
- BPS (Badan Pusat Statistik). (2015) Statistik Tanaman Buah-buahan dan Sayuran Tahunan Indonesia. <https://www.bps.go.id/>
- Dewi, R.S., Giyanto., S. M. Sinaga., Dadang., B. Nuryanto. (2020) Bakteri Agens Hayati Potensial terhadap Patogen Penting pada Padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. Institut Pertanian Bogor. Vol. 16(1). Hal. 37-48.
- Khaeruni, A., G. A. D. Sutariati, & S. Wahyuni. (2010). Karakterisasi dan Uji Aktivitas Bakteri Rizosfer Lahan Ultisol Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman dan Agensi Hayati Cendawan Patogen Tular Tanah Secara *In Vitro*. *Jurnal HPT Tropika*. 10(2): 123 – 130.
- Leclere, V., B. Max., A. Adam., J.S. Guez., B. Watheler., M. Ongena., P. Thonart., F. Gancel., M. Chollet-Imbert, & P. Jacques. (2005) *Mycosubtilin Overproduction by Bacillus subtilis BBG100 Enhances The Organism's Antagonistic and Biocontrol Activities*. Appl Environ Microbiol. 71: 4577-4584.
- Ningsih H., U.S. Hastuti, & D. Listyorini. (2016). Kajian Antagonis *Trichoderma* spp. Terhadap *Fusarium solani* Penyebab Penyakit Layu pada Daun Cabai Rawit (*Capsicum frustescens*) Secara *In Vitro*. *Proceeding Biology Education Conference*. Vol 13(1): 814-817.
- Papuangan, N. (2009). Aktivitas Penghambatan Senyawa Antimikrob *Streptomyces* spp. Terhadap Mikroba Patogen Tular Tanah Secara *In Vitro* dan In Planta. [Tesis]. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Raaijmakers JM., Paulitz TC, & Steinberg C. (2008). The Rhizosphere : a Playground and Battlefield for Soil born Pathogens and Beneficial Microorganism. *Plant Soil*. 10: 1007 1014.
- Rahayu, M. (2008). Efikasi Isolat *Pseudomonas fluorescens* Terhadap Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai. Penelitian Pertanian Tanaman Pangan. 27(8): 179-184.
- Schaad, N. W., J.B. Jones, & W. Chun, (2001). *Laboratory Guidefor Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. Minnesota: APS Press.
- Sembiring, M., R. Sipayung, & F. E. Sitepu. (2014). Pertumbuhan dan Produksi Kacang Tanah dengan Pemberian Kompos Tandan Kosong Kelapa Sawit Pada Frekuensi Pembumbunan yang Berbeda. *J. Online Agroekoteknologi* 2(2): 598-607.
- Sen, A., M.K. Bhattacharya, H.K. Prasad & G.D. Sharma (2018). Plant Growth Promoting Activities of Rhizosphere Bacteria From Two Ferns *Pronephrium nudatum* (Roxb). Holttum and *Bolbitis heteroclita* (C. Presl) Ching: an Analysis of Fern-rhizosphere Relationship. *Indian Journal of Experimental Biology*. 56 : 267-273.
- Soesanto, L., R. Hidayat., D.S. Utami. (2003). Prospek Pemanfaatan *Pseudomonas fluorescens* P60 Untuk Pengendalian Penyakit Busuk Batang pada Kacang Tanah. *J. Fitopatologi Indonesia*. 7(1): 1-6.

- Stein, T. (2005). *Bacillus subtilis* Antibiotics: Struktur, Syntheses and Specific Function. *Molecular Microbiology*. 56(4): 854-857.
- Tariq M., Noman M., Ahmed T., Hameed, A., Manzoor, N. (2017) Antagonistic Features Displayed by Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): a review. *J Plant Sci Phytopathol* 1:038–043.
- Timper P., Minton NA., Johnson AW, Brenneman TB., Culbrreat AK., Burton GW., Beaker SH., Gascho GJ. (2001). Influence of Cropping System on Stem Rot (*Sclerotium rolfsii*), *Meloidogyne arenaria*, and the Nematode Antagonist *Pasteuria penetrans* in peanut. *Plant Disease*. 85: 767-772.
- Walker R., CMJ. Innes., EJ. Allan. (2001). The Potential Biocontrol Agent *Pseudomonas* Antimicrobial Inhibits Germination of Conidia and Outgrowth of *Botrytis cinerea*. *Lett Appl Microbiol*. 32. : 346-348.
- Watanabe, T. (2002). Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. CRC. Press. Washington, D.C.
- Wulff EG., Mgunib CM., Mansfeld-Giesec K., Felsd J., Lübecka M & Hockenhulla J. (2002). Biochemical and Molecular Characterization of *Bacillus amyloliquefaciens*, *B. subtilis* and *B. pumilus* Isolates with Distinct Antagonistic Potential Against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Plant Pathol*, 51.