

JURNAL METAMORFOSA Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Potensi *Bacillus* sp. Sebagai Agen Antagonis Terhadap *Athelia rolfsii* Penyebab Busuk Pangkal Batang Kedelai (*Glycine max* L.)

Potential *Bacillus* sp. As

Antagonist Agent Of *Athelia rolfsii* Caused Stem Rot Disease On Soybean (*Glycine max* L.)

Khotima Dwi Cahya^{1*}, Retno Kawuri², I Made Sara Wijana³

^{1,2,3}Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana

²Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Udayana

*Email: dwicahyakd@gmail.com

INTISARI

Athelia rolfsii penyebab busuk pangkal batang kedelai dengan gejala infeksi pada pangkal batang yang berbatasan dengan permukaan tanah, dapat menurunkan hasil produksi panen kedelai hingga 75%. Pengendalian penyakit busuk pangkal batang dengan pestisida kimia dapat membawa dampak negatif terhadap lingkungan. Bakteri *Bacillus* sp. sebagai agen antagonis diketahui dapat menghasilkan enzim, antibiotik, dan siderophore yang mampu menekan pertumbuhan cendawan patogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. yang diisolasi dari rhizosfer tanaman kacang tanah sehat dalam menekan pertumbuhan cendawan *A. rolfsii* secara *in vitro* dan mengetahui konsentrasi kultur *Bacillus* sp. terbaik, dalam skala *green house*. Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan parameter yang diamati adalah persentase daya hambat secara *in vitro*, persentase kejadian penyakit, dan persentase intensitas penyakit. Data dianalisis dengan analisis ragam (ANOVA), dan dilanjutkan dengan uji Duncan pada perbedaan yang nyata pada taraf uji 5%. Hasil penelitian diperoleh 6 isolat *Bacillus* sp. Isolat *Bacillus* sp. 1 sebagai isolat dengan persentase daya hambat terbaik dalam menekan pertumbuhan *A. rolfsii* (79,44%) digunakan dalam pengujian *in vivo*. Pemberian kultur *Bacillus* sp.1 sebanyak 10 mL dengan kerapatan 1×10^8 sel/mL dapat menekan kejadian penyakit busuk pangkal batang hingga $53,38 \pm 18,23\%$ dan menekan persentase intensitas penyakit hingga $67,78 \pm 19,40\%$ selama 7 HIS. Kontrol positif dengan *Amistar top* menekan kejadian penyakit busuk pangkal batang dan intensitas penyakit hingga $86,68 \pm 18,25\%$. Kultur *Bacillus* sp. 1 berpotensi sebagai agen antagonis terhadap penyakit busuk pangkal batang yang disebabkan oleh *A. rolfsii*.

Kata kunci: Antagonis, *Athelia rolfsii*, *Bacillus* sp, Tanaman kedelai.

ABSTRACT

Athelia rolfsii caused stem rot on soybean plants with symptoms of infection at the base of the stem bordering the soil surface that caused reduce soybean yields up to 75%. Disease stem rot control with chemical fertilizers have negative impact on the environment. *Bacillus* sp. as antagonistic agent that known produced enzymes, antibiotics, and siderophore capable to suppressed pathogenic fungus growth. This study aims to determine the potential of isolates *Bacillus* sp. which was isolated from the groundnut rhizosphere to inhibit *A. rolfsii* *in vitro* and to determine concentration of culture *Bacillus* sp. in greenhouse. The research used a completely randomized design (CRD), where the treatment was derived from the concentration volume of culture *Bacillus* sp. which shows the best

resistance zone. Parameter observed in this research were the inhibition zone, disease incidence, and disease severity. Data were analyzed used analysis of variance (ANOVA), and continued with Duncan's test on a significant difference at the 5% test level. The results obtained 6 isolates of *Bacillus* sp. Isolate *Bacillus* sp.1 as isolate with the best percentage of inhibition in suppressing the growth of *A. rolfsii* (79.44%) then tested on greenhouse. Culture *Bacillus* sp.1 (10 mL) with a density 1×10^8 cells/mL was able to suppress incidence of stem rot disease up to $53.38 \pm 18.23\%$ and the percentage of disease severity $67.78 \pm 19.40\%$ during 7 HIS. *Amistar top* as positive control can suppress percentage incidence and disease severity up to $86,68 \pm 18,25\%$. Culture of *Bacillus* sp.1 have potential as an antagonizing agent in stem rot disease caused by *A. rolfsii*.

Keyword: Antagonist, *Athelia rolfsii*, *Bacillus* sp, Soybean

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L.) merupakan komoditas hortikultur yang banyak dibudidayakan oleh petani di Indonesia setelah padi dan jagung. Kedelai banyak dimanfaatkan sebagai bahan pangan yang kaya akan kandungan protein nabati untuk memenuhi kebutuhan protein manusia (Wahyudin dkk., 2017). Berdasarkan laporan Badan Pusat Statistik, pada tahun 2015 produksi kedelai di Indonesia mencapai kisaran 963.183 ton/ha, sedangkan pada tahun 2016 dan 2017 produksi kedelai mengalami penurunan, dimana pada tahun 2017 produksi kedelai hanya mencapai 538.274 ton/ha. Penurunan jumlah produksi tanaman kedelai dapat diakibatkan oleh adanya infeksi patogen *Athelia rolfsii* sebagai cendawan tular tanah penyebab busuk pangkal batang pada kedelai (Silaban dkk., 2015).

Kehadiran cendawan *A. rolfsii* pada pertumbuhan tanaman kedelai dapat menjadi salah satu faktor pembatas produksi kedelai. Cendawan *A. rolfsii* dalam infeksi akan menyerang akar tanaman atau bagian batang yang berbatasan dengan permukaan tanah, dimana infeksi ini menyebabkan terganggunya proses transportasi hara dan air sehingga tanaman menjadi layu (Sumartini, 2012). Cendawan *A. rolfsii* mampu membentuk sklerotia sebagai bentuk dorman yang tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan (Lolong dkk, 2016).

Pengendalian terhadap serangan *A. rolfsii* tidak dapat dilakukan secara mekanis, sehingga digunakan fungisida sintetis dalam upaya pengendaliannya, namun penggunaan fungisida sintetis dapat memicu resistensi terhadap strain-

strain dan merusak populasi mikroorganisme non target yang bermanfaat untuk tanaman (Hasyim *et al.*, 2015).

Upaya yang dapat dilakukan untuk menanggulangi permasalahan akibat penggunaan fungisida sintetis adalah menggunakan mikroorganisme antagonis. Mikroorganisme antagonis sebagai agen pengendali hayati digunakan untuk menekan pertumbuhan cendawan patogen dan berfungsi untuk meminimalisir gangguan terhadap keseimbangan biologis (Herliyana dkk., 2013). *Bacillus* sp. sebagai mikroba antagonis dapat memproduksi enzim kitinase yang dapat menghidrolisis dinding sel jamur sehingga memberi pertahanan terhadap tanaman (Senol *et al.*, 2014). *Bacillus* sp. juga diketahui mampu memproduksi senyawa antimikroba seperti *bacilbactin*, *teichuronic*, *difficidin*, *macrolatin*, *bacilysin*, *surfactin*, *difficidin*, dan *fengycin*, *iturin*, *bacillomycin* sebagai senyawa antifungi (Lv *et al.*, 2020).

Abidin dkk. (2015) menyatakan bakteri *Bacillus* sp. mampu menekan pertumbuhan jamur patogen *S. rolfsii* dengan persentase hambatan di atas 50% pada skala *in vitro*, sedangkan secara *in vivo* dengan perendaman benih kedelai pada kerapatan bakteri *Bacillus* sp. 1×10^9 sel/mL selama 24 jam dan dengan penyiraman bakteri *Bacillus* sp. dengan volume 15 mL pada kerapatan 1×10^9 sel/mL mampu menekan persentase kejadian penyakit rebah semai kedelai hingga 22%.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan daya hambat bakteri *Bacillus* sp. yang diisolasi dari rhizosfer tanaman kacang tanah terhadap *A. rolfsii* secara *in vitro* dan

untuk mengetahui potensi *Bacillus* sp. dengan zona daya hambat terbaik dalam menghambat pertumbuhan *A. rolf sii* pada tanaman kedelai dalam skala *green house*.

BAHAN DAN METODE

Isolasi bakteri *Bacillus* sp. dari rhizosfer tanaman kacang tanah dan uji kemampuan isolat *Bacillus* sp. dalam menghambat pertumbuhan cendawan *A. rolf sii* secara *in vitro* dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Uji biokimia dan uji gula-gula bakteri *Bacillus* sp. dilakukan di Laboratorium Bakteriologi, Balai Besar Veteriner Denpasar. Pengujian konsentrasi kultur *Bacillus* sp. 1 dalam menekan pertumbuhan *A. rolf sii* dilakukan di *Green House* Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana. Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2020 - Januari 2021. Sumber inokulum isolat *Bacillus* sp. diambil dari rhizosfer tanaman kacang tanah (*Arachys hipogea* L.) sehat pada pertanian Desa Negari, Banjarangkan, Kabupaten Klungkung, Provinsi Bali.

Isolasi bakteri *Bacillus* sp. dilakukan dengan memasukkan 10 g sampel rhizosfer dalam oven dengan suhu 80⁰C selama 20 menit (Cazorla *et al.*, 2007), selanjutnya dilakukan pengenceran dengan aquades steril. Penanaman sampel dilakukan secara *spread plate* pada media *Nutrient Agar* dengan faktor pengenceran 10⁻⁵ dan 10⁻⁶, kemudian diinkubasi dengan suhu 30⁰C selama 48 jam. Koloni bakteri yang dicurigai sebagai bakteri *Bacillus* diamati secara makroskopis dan mikroskopis, serta dilakukan uji biokimia dan uji gula-gula berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume 3* (2009).

Cendawan patogen *A. rolf sii* koleksi Laboratorium Biokimia, Program studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam direisolasi pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) pada suhu 28⁰C selama 7 hari. Uji daya hambat dilakukan dengan metode mengapit cendawan patogen dengan empat goresan isolat antagonis (Mahartha dkk., 2017)

dengan cara mengambil koloni *A. rolf sii* ukuran 5 mm usia 7 hari dan diletakkan di tengah cawan Petri yang berisi media PDA dan diberi 4 goresan dari 1 koloni isolat *Bacillus* sp. berumur 24 jam dengan jarak 2 cm dari cendawan patogen. Biakan diinkubasi pada suhu 28⁰C selama 7 hari. Isolat *Bacillus* sp. dengan daya hambat terbaik digunakan pada pengujian skala *green house*. Persentase daya hambat dihitung dengan rumus:

$$\text{Daya hambat(\%)} = \frac{Lk - Lp}{Lk} \times 100\%$$

Keterangan: Lk = Luas koloni kontrol

Lp = Luas koloni perlakuan

Isolat *Bacillus* sp. 1 sebagai isolat dengan daya hambat terbaik kemudian diinokulasi dalam media *Nutrient Broth* (NB) selama 24 jam pada suhu 37⁰C untuk mendapat kekeruhan setara standar Mcfarland 5% (1x10⁸ sel/ mL). Perlakuan pengaruh kultur *Bacillus* sp. 1 terhadap *A. rolf sii* pada tanaman kedelai dilakukan dengan menginokulasi 5 g cendawan *A. rolf sii* dan 2 g media stater ke dalam lubang tanam. Masing-masing perlakuan yang terdiri dari 6 perlakuan, yaitu pemberian inokulum *A. rolf sii* sebagai kultur negatif dan pemberian fungisida kimia *Amistar Top* 2 mL sebagai kontrol positif, serta kultur *Bacillus* sp.1 sebanyak 2,5 mL, 5 mL, 7,5 mL, dan 10 mL dituang di atas lubang inokulasi patogen satu hari setelah inokulasi patogen.

Pengamatan dilakukan selama 7 hari setelah inokulasi patogen. Pengamatan persentase kejadian penyakit diamati setiap hari dan persentase intensitas penyakit diamati pada hari ke-7. Metode penelitian menggunakan RAL (Rancangan Acak Lengkap) dengan 6 perlakuan dan diulang 5 kali sehingga didapatkan 30 pot percobaan. Data kualitatif dianalisis secara deskriptif, dan data kuantitatif dianalisis menggunakan ANOVA, jika terdapat perbedaan nyata pada taraf uji 5% dilanjutkan dengan uji Duncan taraf 5%. Rumus yang digunakan untuk menghitung persentase kejadian penyakit adalah sebagai berikut.

$$I (\%) = \frac{A}{B} \times 100\%$$

Keterangan:

I = Persentase penyakit

A = Jumlah tanaman sakit

B = Jumlah seluruh tanaman

(Rahayu, 2008)

Rumus untuk menghitung persentase intensitas penyakit adalah sebagai berikut:

$$KeP = \frac{\sum(ni \times vi)}{N \times Z} \times 100\%$$

Keterangan:

KeP : Intensitas penyakit

n : Jumlah tanaman terinfeksi pada tiap kategori serangan

v : Nilai skala kategori serangan

Z : Nilai skala kategori tertinggi

N : Jumlah tanaman yang diamati

(Nurzannah, 2013).

Nilai skala kategori untuk tiap serangan gejala busuk pangkal batang tanaman berdasarkan Antastia dkk. (2019) ditentukan berdasarkan Tabel 1.

Tabel 1. Nilai skala kategori serangan busuk pangkal batang

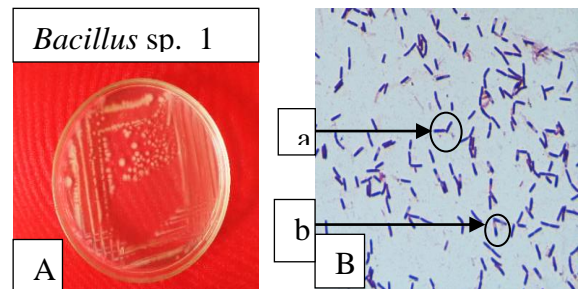
Skala	Gejala serangan
0	Tanpa serangan
1	Nekrosis dengan luasan setengah lingkaran batang
2	Nekrosis dengan luasan 0,5-0,75 lingkaran batang
3	Nekrosis dengan luasan seluruh lingkaran batang
4	Batang yang terinfeksi mulai terkulai dan daun mulai layu
5	Tanaman mati

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian *in vitro* ditemukan 6 isolat *Bacillus* sp. dari rhizosfer tanaman kacang tanah, yaitu *Bacillus* sp.1, *Bacillus* sp.2, *Bacillus* sp.3, *Bacillus* sp.4, *Bacillus* sp.5, dan *Bacillus* sp.6.

A. *Bacillus* sp. 1 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna putih kusam, tepi bergelombang, elevasi rata, dan permukaan koloni kering, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat berbentuk batang, letak

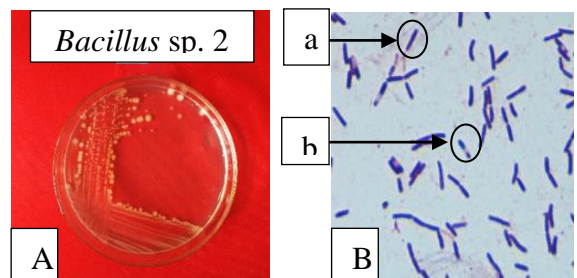
endospora terminal, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.1 dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.1.

Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.1 berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.1 (a) bentuk sel batang, (b) endospora terminal (perbesaran 1000x).

B. *Bacillus* sp.2 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna krem, tepi bergerigi, elevasi *convex*, dan permukaan koloni tidak, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat berbentuk batang, letak endospora sub terminal, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.2 dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.2.

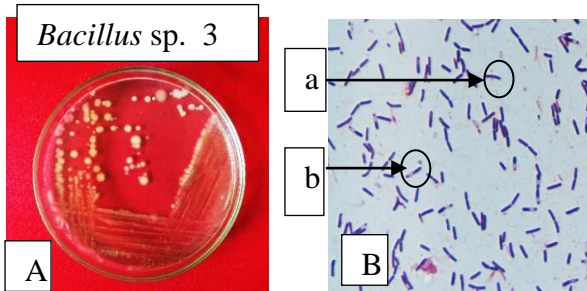
Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.2 berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.2 (a) bentuk sel batang, (b) endospora sub terminal (perbesaran 1000x).

C. *Bacillus* sp.3 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna kuning, tepi bergelombang, elevasi *umbonate*, dan permukaan koloni tidak berlendir, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat berbentuk batang,

letak endospora sub terminal, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.3 dilihat pada Gambar 3.

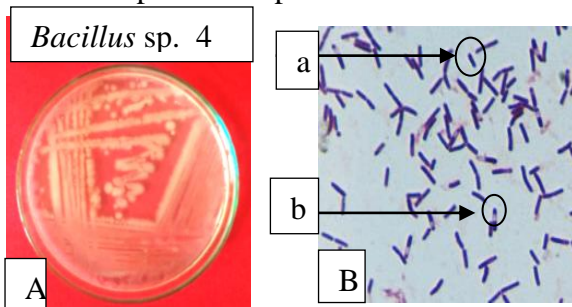
Gambar 3. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.3.

Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.3



berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.3 (a) bentuk sel batang, (b) endospora sub terminal (perbesaran 1000x).

- D. *Bacillus* sp.4 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna putih kusam, tepi *curled*, elevasi rata, dan permukaan koloni berlendir, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat berbentuk batang, letak endospora terminal, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.4 dilihat pada Gambar 4.

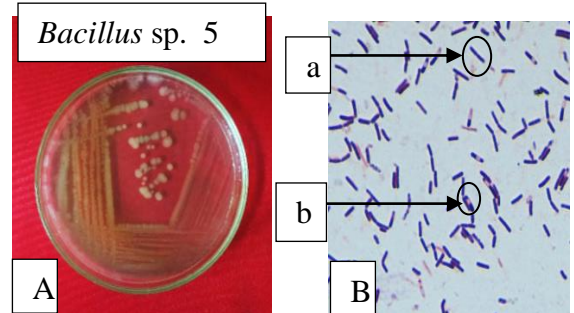


Gambar 4. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.4.

Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.4 berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.4 (a) bentuk sel batang, (b) endospora terminal (perbesaran 1000x).

- E. *Bacillus* sp.5 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna krem, tepi rata, elevasi *umbonate*, dan permukaan koloni tidak, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat

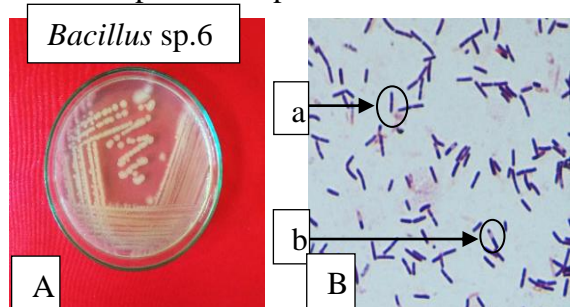
berbentuk batang, letak endospora *central*, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.5 dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.5.

Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.5 berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.5 (a) bentuk sel batang, (b) endospora *central* (perbesaran 1000x).

- F. *Bacillus* sp.6 memiliki ciri koloni berbentuk bulat, ukuran sedang (4-5 mm), berwarna putih krem, tepi rata, elevasi *pulvinate*, dan permukaan koloni berlendir, sedangkan untuk pengamatan secara mikroskopis isolat berbentuk batang, letak endospora sub terminal, dan termasuk bakteri Gram positif. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.6 dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Karakteristik makroskopis dan mikroskopis *Bacillus* sp.6.

Keterangan: A. Koloni *Bacillus* sp.6 berumur 24 jam pada media NA, B. Karakteristik mikroskopis *Bacillus* sp.6 (a) bentuk sel batang, (b) endospora sub terminal (perbesaran 1000x).

Hasil uji biokimia dan uji gula-gula dari isolat *Bacillus* sp. dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji biokimia dan uji gula-gula isolat *Bacillus* sp.

	<i>Bacillus</i> sp.1	<i>Bacillus</i> sp.2	<i>Bacillus</i> sp.3	<i>Bacillus</i> sp.4	<i>Bacillus</i> sp.5	<i>Bacillus</i> sp.6
Katalase	+	+	+	+	+	+
Oksidase	d	+	d	-	d	+
Motilitas	+	+	+	+	+	+
Indol	-	-	-	-	-	-
Penggunaan H ₂ S	-	-	-	-	-	-
Sitrat	+	+	+	+	+	-
Glukosa	+	+	+	+	+	+
Maltosa	+	-	-	+	+	+
Mannitol	+	+	-	+	+	+

Keterangan: + = reaksi positif, - = reaksi negatif, d = reaksi positif lemah

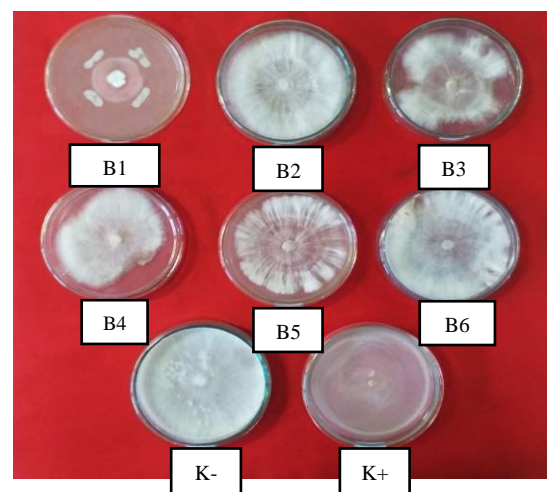
Mayoritas koloni *Bacillus* sp. yang diisolasi memiliki ciri koloni bulat tidak berlendir dengan ukuran sedang berkisar antara 4-5 mm (Smibert and Krieg, 1994), berwarna putih kusam hingga kuning. Secara mikroskopis seluruh isolat *Bacillus* sp. tergolong ke dalam bakteri Gram positif dengan bentuk sel batang. Endospora sebagai bentuk dorman sel vegetatif (Vos *et al.*, 2009) ditemukan pada seluruh isolat *Bacillus* sp. yang terletak di bagian terminal, sub terminal, dan *central* dari sel *Bacillus* sp. (Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, Gambar 4, Gambar 5, Gambar 6).

Bacillus sp. dibedakan dengan bakteri Gram positif penghasil endospora lainnya berdasarkan kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase (Li *et al.*, 2020). Seluruh isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi menunjukkan hasil positif terhadap uji katalase yang ditandai dengan terbentuknya gelembung udara akibat pemberian hidrogen peroksida (H₂O₂) 3%. Hidrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel bakteri, dengan adanya enzim katalase maka H₂O₂ akan dipecah menjadi air dan oksigen sebagai komponen yang tidak berbahaya terhadap sel bakteri (Maruli and Patel, 2017).

Identifikasi *Bacillus* sp. berdasarkan uji biokimia dan uji gula-gula (Tabel 2) serta pengamatan makroskopis dan mikroskopis dengan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition, Volume 3* (2009) menunjukkan isolat *Bacillus* sp. 1 memiliki beberapa kesamaan dengan *B. subtilis*, *Bacillus*

sp. 2 dengan *B. sphaericus*, *Bacillus* sp. 3 dengan *B. megaterium*, *Bacillus* sp. 4 dengan *B. thuringiensis*, dan *Bacillus* sp. 5 dengan *B. pumilus*. Isolat *Bacillus* sp. 6 belum dapat dipastikan spesiesnya berdasarkan ciri kesamaan uji biokimia dengan *Bacillus* sp. lainnya berdasarkan buku *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition*.

Uji daya hambat isolat *Bacillus* sp. terhadap *A. rolfii* menunjukkan hasil yang bervariasi, hasil pada Gambar 7 menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp.1 memiliki daya hambat terbaik dalam menekan pertumbuhan *A. rolfii*, dilihat dari diameter koloni pertumbuhan *A. rolfii* yang lebih kecil dibanding dengan diameter koloni *A. rolfii* perlakuan lainnya. Gambar 7. Uji antagonis isolat *Bacillus* sp. terhadap *A. rolfii* secara *in vitro* pada hari ke-7 setelah inkubasi.



Keterangan: B1= *Bacillus* sp. 1 + *A. rolfsii*, B2= *Bacillus* sp. 2 + *A. rolfsii*, B3= *Bacillus* sp.3 + *A. rolfsii*, B4= *Bacillus* sp. 4 + *A. rolfsii*, B5= *Bacillus* sp. 5 + *A. rolfsii*, B6= *Bacillus* sp. 6 + *A. rolfsii*, K+ = Kontrol positif (*A. rolfsii*), K- = Kontrol negatif (*Amistar Top* + *A. rolfsii*).

Bacillus sp. 1 memiliki persentase daya hambat terbaik dibandingkan isolat lain sebesar

79,47%. Sebaliknya isolat *Bacillus* sp. 2 menunjukkan nilai persentase hambatan terkecil jika dibandingkan dengan isolat *Bacillus* sp. lainnya, dengan persentase hambatan 2,40% yang tidak berbeda secara nyata terhadap kontrol positif dan kontrol negatif (Tabel 3).

Tabel 3. Persentase daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Athelia rolfsii*

No	Isolat bakteri	Persentase daya hambat (%)			
		1 HSI	3 HSI	5 HSI	7 HSI
1	<i>Bacillus</i> sp. 1	39,64 ± 8,25 ^{cd}	80,31 ± 1,79 ^e	81,11 ± 3,33 ^f	79,44 ± 4,44 ^e
2	<i>Bacillus</i> sp. 2	30,63 ± 8,68 ^c	49,99 ± 4,41 ^d	27,40 ± 3,06 ^c	2,40 ± 2,24 ^{ab}
3	<i>Bacillus</i> sp. 3	31,53 ± 5,62 ^{cd}	40,27 ± 5,12 ^c	35,07 ± 8,09 ^{de}	12,78 ± 4,33 ^c
4	<i>Bacillus</i> sp. 4	13,51 ± 2,70 ^b	31,90 ± 4,76 ^b	29,25 ± 3,69 ^{cd}	21,67 ± 3,37 ^d
5	<i>Bacillus</i> sp.5	19,82 ± 1,55 ^b	37,56 ± 9,42 ^{bc}	40,74 ± 2,61 ^e	3,14 ± 2,73 ^{ab}
6	<i>Bacillus</i> sp. 6	31,53 ± 5,40 ^{bc}	55,88 ± 1,79 ^d	15,18 ± 2,84 ^b	5,55 ± 1,66 ^b
7	Kontrol positif (+)	72,97 ± 0,00 ^d	93,21 ± 0,00 ^f	94,44 ± 0,00 ^g	94,44 ± 0,00 ^f
8	Kontrol negatif (-)	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a	0,00 ± 0,00 ^a

Keterangan: Angka pada Tabel 3. merupakan rata-rata dari 3 ulangan ± standar deviasi. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan 5%.

HSI= Hari setelah inkubasi

Bacillus sp. memiliki sifat antagonis terhadap cendawan *A. rolfsii*, yang diketahui dari adanya zona daya hambat terhadap pertumbuhan koloni cendawan patogen (Gambar 7). Variasi persentase daya hambat isolat *Bacillus* sp. terhadap *A. rolfsii* dikarenakan adanya perbedaan kemampuan antagonis dalam setiap isolat bakteri. Perbedaan ini diakibatkan oleh adanya produksi antibiotik dan enzim seperti yang dikatakan oleh Rahayuniati dan Mugiastuti (2012) bahwa antar strain dari *B. subtilis* dapat menghasilkan antibiotik yang berbeda, seperti surfactin, bacilysin, subtilin, subtilosin, fengycin.

Bacillus subtilis juga menghasilkan enzim kitinase yang dapat menghambat dan mendegradasi kitin pada dinding sel jamur sehingga jamur mengalami lisis. Adanya mekanisme antibiosis antara *Bacillus* sp. dengan *A. rolfsii* ditandai dengan terbentuknya daerah zona bening diantara cendawan patogen dengan agen antagonis, adanya perubahan hifa, serta

ditemukan adanya pigmen pada permukaan bawah agen hayati (Purba dkk., 2021).

Bacillus sp. 1 menunjukkan persentase daya hambat terbaik dalam menekan pertumbuhan cendawan *A. rolfsii*. Berdasarkan pengamatan mikroskopis dan makroskopis isolat *Bacillus* sp. 1 memiliki beberapa kesamaan dengan *B. subtilis*. *B. subtilis* telah banyak dimanfaatkan sebagai agen pengendali hayati karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antibiotik. *B. subtilis* AU195 dan *B. subtilis* QST713 dapat menghasilkan antibiotik seperti *bacillomycin D* dan *iturin* yang dapat menekan penyakit rembah kecambah akibat *R. solani* dan *Botrytis* sp. (Junaid et al., 2013). Selain dapat menghasilkan antibiotik *B. subtilis* BCC6327 diketahui mampu menghasilkan enzim kitinase, protease dan b-1,3-glucanase sebagai metabolit sekunder yang dapat menyebabkan kerusakan pada dinding sel jamur (Thakaew and Niamsup, 2013).

Penelitian secara *in vitro* mengenai sifat antagonis *Bacillus* sp. terhadap patogen telah banyak dilakukan, beberapa diantaranya adalah penelitian yang dilakukan Purba dkk (2021) yang menyatakan bahwa *B. cereus* mampu menekan pertumbuhan *C. furficola* secara *in vitro* dengan persentase daya hambat 90,55%. Kemudian penelitian yang dilakukan Prihatiningsih dan Djatmiko (2016) menyatakan bahwa *B. subtilis* B315 mampu menekan pertumbuhan *R. solanacearum* secara *in vitro* dengan zona hambatan 14 mm. *Bacillus* sp. yang diisolasi oleh Syofiana dan Masnilah (2019) dilaporkan mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae* dengan diameter zona hambat hingga 14 mm, dan mampu menekan pertumbuhan *Fusarium* sp. dengan persentase zona hambat hingga 73,68%.

Isolat *Bacillus* sp. 1 sebagai isolat dengan daya hambat terbaik, digunakan dalam pengamatan skala *green house*. Hasil analisis ragam menunjukkan persentase kejadian penyakit akibat infeksi *A. rolfsii* dengan pemberian konsentrasi *Bacillus* sp. 1 kerapatan sel 1×10^8 sel/mL, waktu pengamatan 7 HIS pada perlakuan A (*A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (2,5

mL)) dan perlakuan B (*A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (5 mL)) tidak berbeda secara nyata terhadap kontrol negatif, sedangkan perlakuan C (*A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (7,5 mL)) dan perlakuan D (*A. rolfsii* + *Bacillus* sp. (10 mL)) berbeda secara nyata terhadap kontrol negatif dan kontrol positif (Tabel 4).

Konsentrasi kultur *Bacillus* sp. 1 bersifat fungistatik, hal ini dapat dilihat dari peningkatan angka persentase kejadian penyakit tiap harinya. Kejadian penyakit tertinggi pada 7 hari setelah inokulasi patogen (HIS) ditunjukkan pada perlakuan E yaitu kontrol negatif sebesar 100%. Pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp. 1 sebanyak 10 mL mampu menekan persentase kejadian penyakit sebesar 53,38%, dimana pada perlakuan ini persentase kejadian penyakit yang ditunjukkan di akhir pengamatan adalah 46,62% yang berbeda secara nyata terhadap pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp. 1 (5 mL dan 7,5 mL) serta kontrol negatif dan kontrol positif. Pengaruh pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp. 1 dengan kerapatan sel 1×10^8 sel/mL terhadap persentase kejadian penyakit akibat *A. rolfsii* selama 7 hari pengamatan dilihat pada tabel 4 dan Gambar 8.

Tabel 4. Pengaruh pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 terhadap persentase kejadian penyakit akibat infeksi *A. rolfsii*

No	Perlakuan	Persentase Kejadian Penyakit (%)				
		3 HIS	4 HIS	5 HIS	6 HIS	7 HIS
1	A	59,94±14,89 ^{bc}	73,28±14,93 ^c	73,28±14,93 ^c	86,64±18,23 ^{cd}	86,64±18,29 ^{cd}
2	B	53,28±18,23 ^{bc}	59,94±14,89 ^{bc}	73,28±14,93 ^c	79,96±18,29 ^{cd}	79,96±18,29 ^{cd}
3	C	46,62±18,23 ^b	46,62±18,23 ^b	59,94±14,89 ^{bc}	66,62±23,58 ^{bc}	66,62±23,58 ^{bc}
4	D	39,96±14,89 ^b	39,96±14,89 ^b	46,62±18,23 ^b	46,62±18,23 ^b	46,62±18,23 ^b
5	E	73,28±14,93 ^c	79,96±18,23 ^c	93,32±14,93 ^d	93,32±14,93 ^d	100±0,00 ^d
6	F	0±0,00 ^a	0±0,00 ^a	0±0,00 ^a	13,32±18,23 ^a	13,32±18,23 ^a

Keterangan: Angka pada Tabel 4 merupakan rata-rata dari 5 ulangan ± standar deviasi. Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan 5%. HIS= Hari setelah inokulasi patogen.



Gambar 8. Pengaruh pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 terhadap kejadian penyakit pada tanaman kedelai usia 7 hari setelah perlakuan.

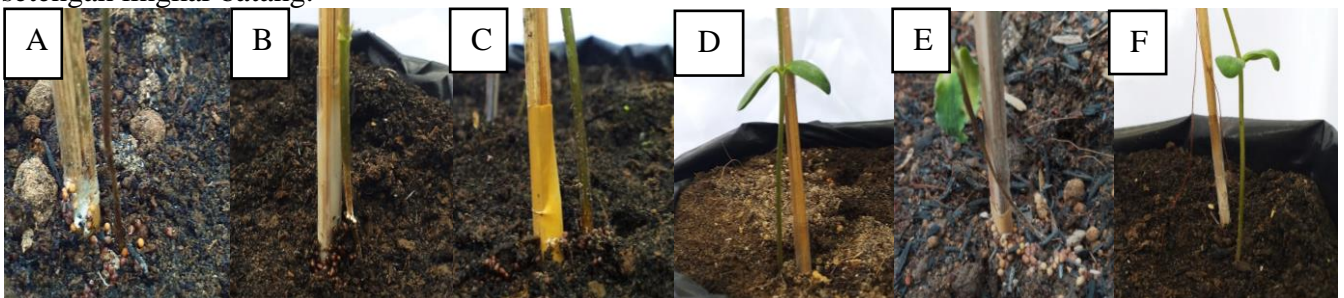
Keterangan: A) *A. rolf sii* + *Bacillus* sp.1 (2,5 mL), B) *A. rolf sii* + *Bacillus* sp.1 (5 mL), C) *A. rolf sii* + *Bacillus* sp.1 (7,5 mL), D) *A. rolf sii* + *Bacillus* sp.1 (10 mL), E) Kontrol – (*A. rolf sii*), F) Kontrol + (*A. rolf sii* + *Amistar Top*).

Selain pengamatan terhadap persentase kejadian penyakit akibat infeksi *A. rolf sii*, dilakukan juga pengamatan terhadap intensitas penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kedelai akibat infeksi *A. rolf sii* pada hari ke 7 setelah inokulasi patogen (HIS). Pengaruh pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 menunjukkan hasil yang berbanding lurus terhadap terhadap penurunan intensitas penyakit busuk pangkal batang tanaman kedelai.

Hasil pengamatan (Gambar 9) menunjukkan perlakuan pemberian inokulasi patogen dengan penambahan konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 (10 mL) memiliki tingkat intensitas penyakit terendah dibanding kultur konsentrasi *Bacillus* sp.1 lainnya, dimana rata-rata tanaman dalam perlakuan ini tidak menunjukkan gejala serangan, namun beberapa tanaman mengalami nekrosis kurang dari setengah lingkaran batang.

Perlakuan konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 10 mL berdasarkan Tabel 5 menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata terhadap kontrol positif, hal ini menandakan bahwa pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 10 mL memiliki pengaruh yang sama dengan fungisida kimia dalam menekan *A. rolf sii*. Perlakuan A, yaitu pemberian inokulasi patogen dengan penambahan konsentrasi terendah menunjukkan tingkat intensitas penyakit yang cukup tinggi, dimana pada perlakuan ini rata-rata tanaman mengalami nekrosis seluruh batang, tanaman mengalami kelayuan dengan intensitas serangan

A. rolf sii yang parah (Gambar 9). Semakin tinggi konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 dengan kerapatan 1×10^8 sel/ mL yang diberikan maka persentase intensitas penyakit akibat infeksi *A. rolf sii* akan menurun.



Gambar 9. Pengaruh pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 terhadap intensitas penyakit busuk pangkal kedelai.

Keterangan: Intensitas gejala busuk pangkal kedelai setelah 7 hari pengamatan.

A) *A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (2,5 mL), B) *A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (5 mL), C) *A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (7,5 mL), D) *A. rolfsii* + *Bacillus* sp.1 (10 mL), E) Kontrol – (*A. rolfsii*), F) Kontrol + (*A. rolfsii* + *Amistar Top*)

Tabel 5. Pengaruh konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 terhadap persentase intensitas penyakit busuk pangkal batang kedelai.

No	Perlakuan	Persentase Intensitas Penyakit (%)
1	A	73,56 ± 9,82 ^d
2	B	58,33 ± 16,07 ^{cd}
3	C	45,65 ± 14,33 ^{bc}
4	D	32,22 ± 19,40 ^{ab}
5	E	97,33 ± 3,65 ^e
6	F	13,32 ± 18,25 ^a

Kultur *Bacillus* sp.1 dengan konsentrasi 10 mL dapat menekan persentase kejadian penyakit dan intensitas penyakit, tetapi kemampuan kultur *Bacillus* sp.1 dalam menekan kejadian penyakit busuk pangkal batang akibat *A. rolfsii* pada konsentrasi yang paling tinggi (10 mL) sebesar 53,38% masih lebih rendah jika dibandingkan dengan penekanan angka kejadian penyakit dengan penggunaan fungisida sintetis sebesar 86,68%. Demikian juga dengan tingkat intensitas penyakit, dimana penekanan tingkat intensitas penyakit dengan dengan konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 (10 mL) adalah 67,78%, sedangkan fungisida sintetis mencapai 86,68%. Tetapi mengingat fungisida sintetis dapat menimbulkan dampak lingkungan yang tidak baik yaitu menurunkan pH tanah dan mengenai hewan dan mikroorganisme non target, maka penggunaan kultur *Bacillus* sp. 1 sebagai agen antagonis memiliki prospek yang baik untuk digunakan.

Infeksi *A. rolfsii* penyebab busuk pangkal batang yang terjadi tanaman kedelai sesuai dengan penelitian Paparu *et al.* (2020) yang menyatakan bahwa gejala busuk pangkal batang pada tanaman kedelai diawali dengan nekrosis pangkal batang hingga terjadi perubahan warna menjadi coklat, selanjutnya diikuti oleh pertumbuhan miselium pada permukaan batang, kemudian adanya pertumbuhan sklerotia pada miselium, adanya gejala layu pada daun, busuk polong, hingga kematian pada tanaman. *A.*

rolfsii dalam infeksi akan mensekresikan enzim lakase (Elias *et al.*, 2015), enzim selulase serta asam oksalat (Billah *et al.*, 2017) dalam menginfeksi tanaman.

Intensitas serangan *A. rolfsii* terhadap pangkal batang tanaman kedelai (Gambar 9) menunjukkan tingkat keparahan nekrosis pada pangkal batang yang berbatasan dengan tanah. Perlakuan pemberian konsentrasi kultur *Bacillus* sp.1 (2,5 mL) menunjukkan bahwa rata-rata tanaman mengalami nekrosis seluruh batang, tanaman mengalami kelayuan dan kematian dengan tingkat intensitas serangan *A. rolfsii* yang parah. Perlakuan B (kultur *Bacillus* sp.1 (5 mL)) menunjukkan bahwa rata-rata tanaman mengalami nekrosis 0,5 - 0,75 lingkaran batang dan pada beberapa tanaman mengalami kelayuan dan kematian, sedangkan rata-rata tanaman pada perlakuan C (kultur *Bacillus* sp.1 (7,5 mL)) mengalami nekrosis kurang dari hingga setengah lingkaran batang dan beberapa tanaman mengalami kelayuan. Perlakuan D (kultur *Bacillus* sp.1 (10 mL)) menunjukkan rata-rata tanaman tidak menunjukkan gejala serangan, namun beberapa tanaman mengalami nekrosis kurang dari setengah lingkaran batang dengan gejala serangan *A. rolfsii* yang jarang ditemui.

Bacillus sp. sebagai mikroba antagonis mampu menghasilkan antibiotik *iturin A* yang dapat menghambat pertumbuhan *B. cinerea*, *C. gloesporioides*, *F. oxysporum*, *R. solani*, dan *A. alternata* (Dang *et al.*, 2019), selain itu *Bacillus* sp. juga mampu menghasilkan enzim kitinase, protease, lipase, dan amilase selama masa eksponensial (Westers *et al.*, 2004). Enzim amilase yang diisolasi dari *B. subtilis* B315 mampu menghambat pertumbuhan *R. solanacearum* dengan zona hambatan sebesar 14 mm (Prihatiningsih dan Djatmiko, 2016).

Khadim dkk. (2014) melaporkan bahwa *Bacillus* sp. secara *in vivo* mampu menekan intensitas serangan *R. solani* hingga 23% dan terburuk 100%. Hadiwiyono dkk. (2015) melaporkan bahwa 30 isolat *Bacillus* sp. yang diisolasi menunjukkan hasil positif terhadap

pengujian aktivitas enzim kitinase dan pektinase, sehingga dalam penelitian ini diketahui bahwa isolat *Bacillus* sp. dapat menekan pertumbuhan *Fusarium* sp. secara *in vitro* dengan persentase daya hambat terbaik 93,17%, sedangkan secara *in vivo* *Bacillus* sp. dapat menekan intensitas serangan *Fusarium* sp. penyebab layu fusarium pada pisang hingga 22,22%. Suryadi *et al.* (2015) menyatakan bahwa *Bacillus* sp. mampu menghasilkan senyawa turunan steroid, flavonoid, dan fitoaleksin yang diketahui memiliki kemampuan sebagai antifungi.

KESIMPULAN

Terdapat 6 isolat *Bacillus* sp. yang berhasil diisolasi dari rhizosfer tanaman kacang tanah. Isolat *Bacillus* sp. 1 memiliki persentase daya hambat tertinggi dalam menghambat pertumbuhan *A. rolfsii* secara *in vitro* dengan persentase hambatan sebesar $79,44 \pm 44\%$. Kultur *Bacillus* sp. 1 dengan konsentrasi volume 10 mL dan kerapatan 1×10^8 sel/mL setelah 7 HBS dapat menekan persentase kejadian penyakit busuk pangkal batang pada tanaman kedelai sebesar $53,38 \pm 18,23\%$ dan persentase intensitas penyakit $67,78 \pm 19,40\%$ pada penelitian skala green house.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., L.Q. Aini, dan A. L. Abadi. 2015. Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp, dan *Pseudomonas* sp. terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai, *Jurnal Hama Penyakit Tanaman*, 3(1): 1-10.
- Antastia, W., I. Safni, dan A. Z. Siregar. 2019. Uji Efektifitas Beberapa Jenis Rizobakteri Pemacu Tumbuh Tanaman (RPTT) untuk Mengendalikan Penyakit Rebah Kecambah (*Athelia rolfsii* (Curzi)) pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L.) Merrill), *Jurnal Agroekoteknologi*, 7(2): 273-281.
- Billah, K. M. M., M. B. Hossain, M. H. Prince, and M. M. P. Sumon. 2017. Pathogenicity of *Sclerotium Rolfsii* on Different Host, and Its over Wintering Survival; A Mini Review, *Journal of Advances in Agriculture Sciences*, 2(7): 1-6.
- Cazorla, F. M., D. Romero, A. P. Garcia, B. J. J. Lugtenberg, A. D. Vicente, and G. Bloemberg. 2007. Isolation and characterization of antagonistic *Bacillus subtilis* strains from the avocado rhizoplane displaying biocontrol activity, *Journal of Applied Microbiology*, 103: 1950-1959.
- Dang, Y., F. Zhao, X. Liu, X. Fan, R. Huang, W. Gao, S. Wang, and C. Yang. 2019. Enhanced production of antifungal lipopeptide iturin A by *Bacillus myloliuefaciens* LL3 through metabolic engineering and culture conditions optimization, *Microbial Cell Factories*, 18(68): 1-14.
- Elias, A., A.B.M. Ferreira, and C.J. Bueno. 2015. In vitro production of extracellular enzymes by fungi and their relationship with the symptoms described for the host plant, *Summa Phytopathologica*, 41(4): 315-317.
- Hadiwiyono, A. Widyantoro, dan Widono, S. 2013. Antagonisme *Bacillus* terhadap Infeksi Layu *Fusarium* pada Bibit Pisang Hasil Kultur Jaringan, *Agrosains*, 15(1): 21-26.
- Hasyim, A., W. Setiawati, dan L. Lukman. 2015. Inovasi Teknologi Pengendalian OPT Ramah Lingkungan pada Cabai: Upaya Alternatif Menuju Ekosistem Harmonis, *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 8(1): 1-15.
- Herliyana, E. N., R. Jamilah, D. Taniwiryo, dan M. A. Firmansyah. 2013. Uji *In-vitro* Pengendalian Hayati oleh *Trichoderma* spp. terhadap *Ganoderma* yang Menyerang Sengon, *Jurnal Silvikultur Tropika*, 4(3): 190-195.
- Junaid J.M., N. A. Dar, T. A. Bhat, A. H. Bhat, and M. A. Bhat. 2013. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant

- pathogens, *International Journal of Modern Plant and Animal*, 1(2): 39-57.
- Khadim, M., P. A. Mihardjo, A. Majid. 2014. Efektivitas Beberapa Isolat *Bacillus* spp untuk Mengendalikan Patogen Jamur *Rhizoctonia solani* pada Tanaman Kedelai, *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1): 1-6.
- Li, L. H., Y. L. Shih, J. Y. Huang, C. J. Wu, Y. W. Huang, H. H. Huang, Y. C. Tsai, and T. C. Yang. 2020. Protection from Hydrogen Peroxide Stress Relies Mainly on AhpCF and KatA2 in *Stenotrophomonas maltophilia*, *Journal of Biomedical Science*, 27 (37): 1-9.
- Lolong, A. A., Salim, dan N. L. Barri. 2016. Serangan Cendawan *Sclerotium rolfsii* pada Beberapa Varietas Kedelai yang Ditanam di Beberapa Sistem Tanam Kelapa, *Buletin Palma*, 17 (2): 139-146.
- Lv, J., R. Da, Y. Cheng, X. Tuo, J. Wei, K. Jiang, A. O. Monisayo, and B. Han. 2020. Mechanism of Antibacterial Activity of *Bacillus amyloliquefaciens* C-1 Lipopeptide toward Anaerobic *Clostridium difficile*, *BioMed Research International*, 1-12.
- Mahartha, K. A., D. N. Supratpa, dan G. N. A. S. Wirya. 2017. Potensi Rizobakteri yang Diisolasi dari Rizosfer Tanaman Leguminosae untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai, *Jurnal Agriculture Science and Biotechnology*, 6(1): 1-8.
- Murali, A., and S. Patel. 2017. The Effect of Different Heavy Metal Acetate Solutions on the Inhibition of Catalase Enzyme, *Journal of the South Carolina Academy of Science*, 15(2): 68-74.
- Nurzannah, S.E. 2013. "Potensi Jamur Endofit Asal Cabai Sebagai Agens Hayati untuk Mengendalikan Layu *Fusarium* (*Fusarium oxysporum*) pada Cabai dan Interaksinya" (Skripsi). Medan, Universitas Sumatera Utara.
- Paparu, P., A. Acur, F. Kato, C. Acam, J. Nakibuule, A. Nkuboye, S. Musoke, and C. Mukankusi. 2020. Morphological and Pathogenic Characterization of *Sclerotium rolfsii*, the Causal Agent of Southern Blight Disease on Common Bean in Uganda, *Plant Disease*, 104(8): 2130-2137.
- Prihatiningsih, N., dan H. A. Djatmiko. 2016. Enzim Amilase Sebagai Komponen Antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* Kentang, *Jurnal HPT Tropika*, 16(1): 10-16.
- Purba, K. S., K. Khalimi, dan N. W. Suniti. 2021. Uji Aktivitas Antijamur *Bacillus cereus* terhadap *Colletotrichum fructicola* KRCR Penyebab Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.), *Jurnal Agroekoteknologi Tropika*, 10(1): 50-58.
- Rahayu, M. 2008. Efikasi Isolat *Pseudomonas fluorescens* terhadap Penyakit Rebah Semai pada Kedelai, *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 27(3): 179-184.
- Rahayuniati, R.F., dan E. Mugiastuti. 2012. Keefektifan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* mengendalikan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* dan *Meloidogyne* sp. penyebab penyakit layu pada tomat secara *in vitro*, *Jurnal Pembangunan Pedesaan*, 12(1): 65 – 70.
- Senol, M., H. Nadaroglu, N. Dikbas, and R. Kotan. 2014. Purification of Chitinase enzymes from *Bacillus subtilis* bacteria TV-125, investigation of kinetic properties and antifungal activity against *Fusarium culmorum*, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 13(35): 1-7.
- Silaban, I. C., L. Q. Aini, dan M. A. Syib'li. 2015. Pengujian Konsorsium Mikroba Antagonis untuk Mengendalikan Jamur *Sclerotium rolfsii* Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Kedelai (*Glycine max* L.), *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 3 (2): 100-107.

- Smibert, R.M., and N.R. Krieg. 1994. *Methods for General and Molecular Bacteriology: Phenotypic Characterization*. Washington, D,C: American Society for Microbiology.
- Sumartini. 2012. Penyakit Tular Tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) pada Tanaman Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian serta Cara Pengendaliannya, *Jurnal Litbang Pertanian*, 31(1): 27-34.
- Suryadi, Y., I. M. Samudra, T.P. Priyanto, D. N. Susilowati, P. Lestari, dan Sutoro. 2015. Aktivitas Anticendawan *Bacillus cereus* 11UJ terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Pyricularia oryzae*, *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 11(2): 35- 42.
- Syofiana, R. V. T., dan R. Masnilah. 2019. Eksplorasi *Bacillus* spp. pada beberapa Rhizosfer Gulma dan Potensinya sebagai Agens Pengendali HayatiPatogen Tanaman secara *In Vitro*, *Jurnal Bioindustri*, 2 (1): 349-363.
- Thakaew, R. and H. Niamsup. 2013. Inhibitory activity of *Bacillus subtilis* BCC 6327 metabolites against growth of aflatoxigenic fungi isolated from bird chili powder, *International Journal of Bioscience, Biochemistry, and Bioinformatics*, 3(1): 27–31.
- Vos, P. D., G. M. Garrity, D. Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, K. H. Schleifer, and W. B. Whitman. 2009. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd Edition Volume Three, The Firmicutes*. USA: Universitas of Georgia.
- Wahyudin, A., F.Y. Wicaksono, A.W. Irwan, Ruminta, dan R. Fitriani. 2017. Respons tanaman kedelai (*Glycine max*) varietas Wilis akibat pemberian berbagai dosis pupuk N, P, K, dan pupuk guano ada tanah Inceptisol Jatinangor, *Jurnal Kultivasi*, 16 (2): 333-339.
- Westers, L., H. Westers, and W. J. Quax. 2004. *Bacillus subtilis* as cell factory for pharmaceutical proteins: a biotechnological approach to optimize the host organism, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1694(2004): 299–310.