

Jurnal Pengendalian Hayati
(*Journal of Biological Control*)

DOI: doi.org/10.19184/jph.v3i1.17151

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

Viability of Bacillus sp. as a Plant Pathogen Antagonist Agent in Flour Based Formulations

Dhirham Khusma Fakhruddin dan Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti

Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember. Jl. Kalimantan 37 Kampus Tegalboto Jember 68121

INFORMASI ARTIKEL

***Korespondensi:**

Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti
suhartiningsih.faperta@unej.ac.id

Published: 18 Maret 2020

Cara sitasi:

DK Fakhruddin, SD Nurcahyanti (2020). Viabilitas *Bacillus* sp. Sebagai Agen Antagonis Patogen Tanaman Dalam Formulasi Berbahan Dasar Tepung. *Jurnal Pengendalian Hayati* 3(1):29-37

ABSTRACT

Bacterial biopesticide formulations needed because the use of bacteria in the suspensions can reduce the ability to control disease in plants. Therefore, a bacterial suspension needs to be mobilized in the formula with a carrier (Carrier) to maintain the viability of bacteria. This research uses the formulation of *Bacillus* sp. made from rice flour, corn, tapioca and talc with the addition of urea, glucose and CMC. Formulation of *Bacillus* sp. flour based with the addition of urea, glucose and CMC were tested with *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* and *Colletotrichum* sp. in vitro. The results 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.

PENDAHULUAN

Formulasi yang dapat dilakukan yaitu dengan menggunakan bahan dasar media tepung, seperti tepung tapioka, tepung beras dan tepung jagung (Muis dkk.,2015). 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. Menurut Magiastuti (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

METODE PENELITIAN

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. Kemudian bakteri pada media dibuat menjadi suspensi lalu diencerkan dan ditumbuhkan pada media NA selanjutnya diinkubasi selama 48 jam dan diamati populasi bakteri yang dapat memperoleh seri pengenceran yang memiliki populasi 10^{13} cfu/ml.

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. Peremajaan *Colletotrichum* sp. (koleksi Hurin Nabila) dengan cara mengambil 1 plong isolat kemudian ditanam pada media YPGA lalu diinkubasi selama 48 jam.

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).

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).

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).

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.

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).

Formulasi *Bacillus* sp. berbahan dasar tepung Inokulasi *Bacillus* sp.

Inokulasi dilakukan dengan cara mengambil suspensi *Bacillus* sp. sebanyak 10 ml dengan populasi 10^{13} cfu/ml lalu dimasukkan kedalam masing-masing media tepung sebanyak 100 gram + glukosa 0,5 gram + urea 0,5 gram + CMC 0.1 gram. dan menyimpannya dalam kantong plastik.

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.

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.

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).

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). $Cfu/gram = \text{jumlah total koloni dari volume yang disebar ke cawan petri dikali faktor pengenceran}$

Daya antagonisme Uji antagonis *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):

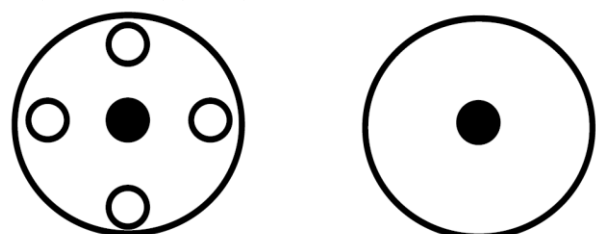
$$\text{Zona hambat} = x_1 + x_2 + x_3 + x_4$$

Keterangan:

- x1 = sis 1 zona hambatan
- x2 = sisi 2 zona hambatan
- x3 = sis 3 zona hambatan
- x4 = sisi 4 zona hambatan

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

Uji aatagonis 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):



Pengukuran daya
hambat APH

Perlakuan
kontrol

 *Colletotrichum* sp.

 *Bacillus* sp.

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

R = Persentase penghambatan (%)

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

Ri = Jari-jari menuju pust antagonis (mm)

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.

HASIL PENELITIAN

Karakteristik *Bacillus* sp.

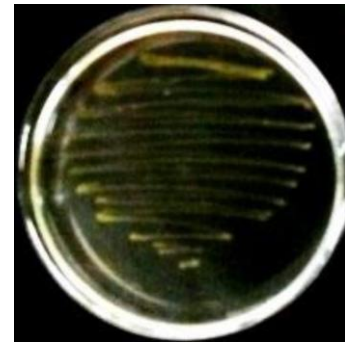
Isolat *Bacillus* sp. yang ditumbuhkan pada media YPGA memiliki ciri-ciri koloni berwarna putih, memiliki bentuk dan tepi koloni tidak beraturan, memiliki elevasi datar. Hal ini sesuai dengan pendapat Runtuboi dkk., (2018) bahwa *Bacillus* sp. pada umumnya memiliki warna putih, memiliki karakteristik yang bervariasi seperti memiliki bentuk koloni besar, melingkar, bergelombang, tepi berombak, tekstur halus seperti Gambar 1.



Gambar 1. Koloni *Bacillus* sp

Karakteristik *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*

Isolat Xag yang ditumbuhkan pada media YPGA memiliki karakteristik koloni berwarna kuning, bentuk koloni bulat, memiliki tepi rata dan cembung. Hal ini sesuai dengan pendapat Khaeruni dkk., (2008) bahwa memiliki warna kuning koloni berbentuk bulat dengan pinggiran rata, mukoid, permukaan koloni konveks, licin mengkilat seperti Gambar 2.



Gambar 2. Koloni bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines*.

Karakteristik *Colletotrichum* sp.

Isolat *Colletotrichum* sp. yang ditumbuhkan pada media YPGA memiliki ciri-ciri yang dilihat dari atas miselium jamur berwarna putih dengan miselium tegak dipermukaan, arah pertumbuhan koloni kesamping dan memiliki struktur yang halus. Hal ini sesuai dengan pendapat Aini dkk., (2013) bahwa miselium *Colletotrichum gleosporoides* yang berumur muda berwarna putih dan kemudian berangsur-angsur berubah menjadi orange keabu-abuan saat sudah tua seperti Gambar 3.



Gambar 3. Koloni jamur *Colletotrichum* sp.

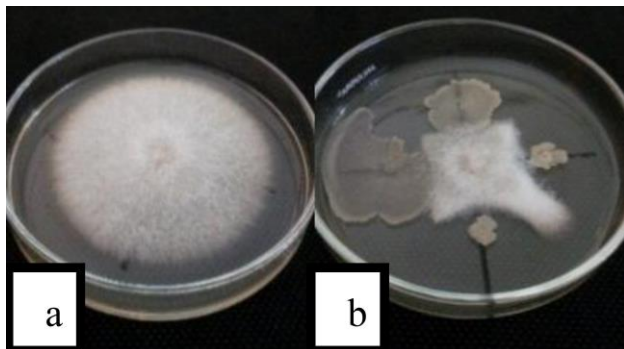
Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap patogen sebelum diformulasi

Zona hambat *Bacillus* sp. terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. *Bacillus* sp. mampu menghambat Xag pada media YPGA dengan nilai hambatan sebesar 12 mm, hal ini dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Zona hambat *Bacillus* sp. sebelum digunakan dalam formulasi.

Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. *Bacillus* sp. mampu menghambat *Colletotrichum* sp. pada media YPGA dengan nilai hambatan sebesar 76,6%, hal ini dapat dilihat pada Gambar 5.

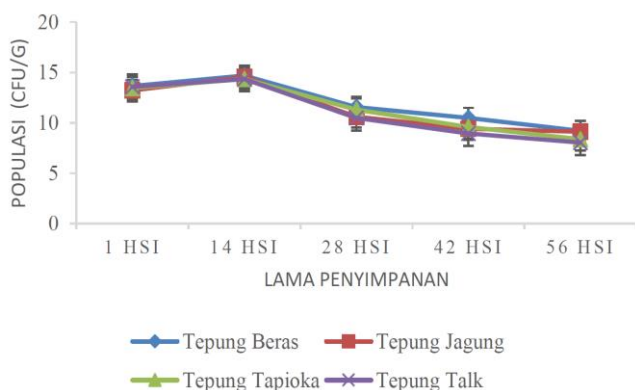


Gambar 5. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. (a) koloni *Colletotrichum* sp. tanpa *Bacillus* sp. (b) koloni *Colletotrichum* sp. dengan *Bacillus* sp.

Viabilitas *Bacillus* sp. dalam formulasi berbahan dasar tepung. Formulasi *Bacillus* sp. berbahan dasar tepung hingga hari ke-56. Menunjukkan masing-masing formulasi tepung ini memiliki bau dan tekstur yang berbeda seperti Tabel 1 dan Gambar 6.



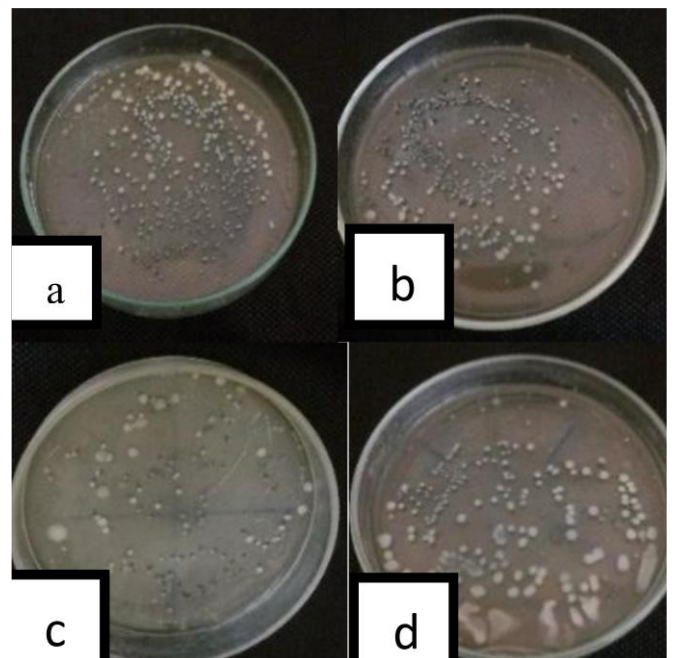
Gambar 6 Formulasi *Bacillus* sp. berbahan dasar tepung, (a) Tepung beras + gulukosa + urea + CMC, (b) Tepung tapioka + gulukosa + urea + CMC, (c) Tepung jagung + gulukosa + urea + CMC, (d) Tepung talk + gulukosa + urea + CMC.



Gambar 7. Populasi *Bacillus* sp. setelah formulasi

Pertumbuhan populasi tertinggi dari 1 hsi hingga 56 hsi terdapat pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras yaitu sebesar $4,9 \times 10^{14}$ cfu/g pada 14 hsi akan tetapi berbeda tidak nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung sedangkan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras berbeda nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung tapioka maupun tepung talk.

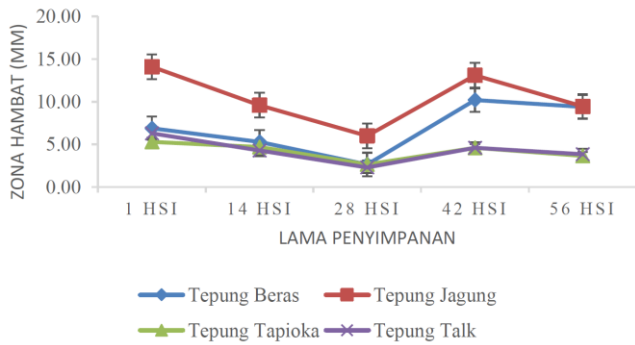
Populasi terendah pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk yaitu sebesar $1,1 \times 10^8$ cfu/g pada 56 hsi, *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk berbeda sangat nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras maupun tepung jagung. *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk berbeda nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung tapioca (Gambar 7). Hasil pengamatan populasi *Bacillus* sp. pada masing-masing formulasi tepung memiliki jumlah yang berbeda-beda seperti Gambar 8



Gambar 8. Pertumbuhan jumlah koloni *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung pada 56 hsi, (a) Formulasi tepung beras, (b) Formulasi tepung tapioka, (c) Formulasi tepung jagung, (d) Formulasi tepung talk.

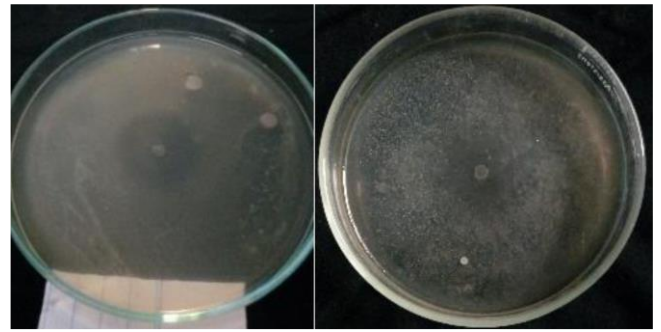
Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap patogen setelah diformulasikan

Zona hambat *Bacillus* sp. terhadap *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines* Kemampuan *Bacillus* sp. dalam menghambat Xag setelah diformulasikan berbeda-beda pada masing-masing formulasi dan lama penyimpanan (Gambar 9).

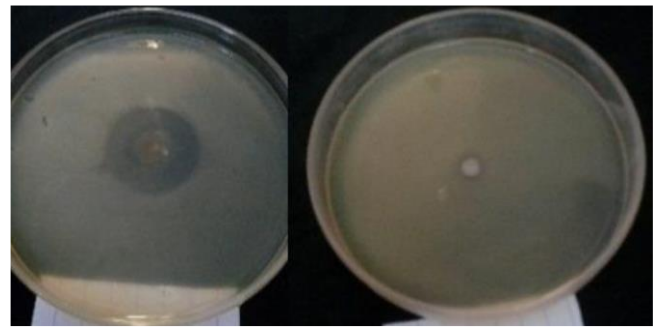


Gambar 9. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Xag*.

Zona hambat *Bacillus* sp. pada 1 hsi formulasi tepung tapioka berbeda tidak nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras, jagung dan talk. Zona hambat *Bacillus* sp. pada 28 hsi formulasi tepung talk berbeda tidak nyata dengan *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, tapioka dan beras. Zona hambat *Bacillus* sp. pada 42 hsi dan 56 hsi masing-masing formulasi tepung tidak berbeda nyata. Zona hambat terendah selama masa penyimpanan hingga 56 hsi terdapat pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk yaitu sebesar 2,3 mm pada 28 hsi sedangkan nilai daya hambat terbesar yaitu pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung sebesar 14,1 mm pada 1 hsi.



Gambar 11. Zona hambat *Bacillus* sp. terbesar dan terkecil pada 14 hsi. (a) *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, (b) *Bacillus* sp. dalam formulasi talk.



Gambar 12. Zona hambat *Bacillus* sp. terbesar dan terkecil pada 28 hsi. (a) *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, (b) *Bacillus* sp. dalam formulasi talk.



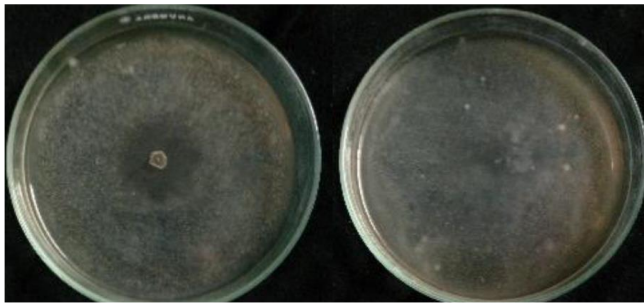
Gambar 10. Zona hambat *Bacillus* sp. terbesar dan terkecil pada 1 hsi. (a) *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, (b) *Bacillus* sp. dalam formulasi tapioca



Gambar 13. Zona hambat *Bacillus* sp. terbesar dan terkecil pada 42 hsi. (a) *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, (b) *Bacillus* sp. dalam formulasi talk.

Tabel 1. Karakteristik tepung sebelum formulasi dan sesudah

Formulasi	Tekstur		Bau	
	Sebelum	Sesudah (7 hsi)	Sebelum	Sesudah 7 (hsi)
Tepung Beras + urea +glukosa +CMC	Halus	Remah	Tidak menyengat	Menyengat
Tepung Tapioka + urea +glukosa +CMC	Halus	Agak Remah	Tidak menyengat	Agak menyengat
Tepung Jagung + urea +glukosa +CMC	Kasar	Remah	Tidak menyengat	Menyengat
Tepung Talk + urea +glukosa +CMC	Halus	Menggumpal	Tidak menyengat	Agak menyengat

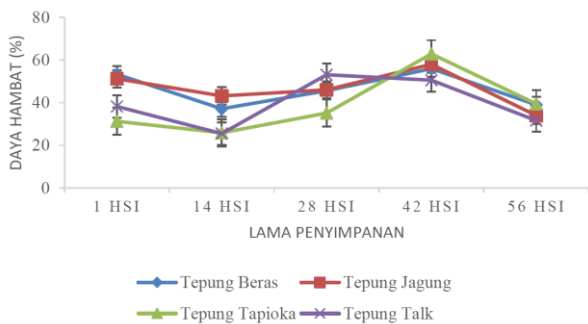


Gambar 14. Zona hambat *Bacillus* sp. terbesar dan terkecil pada hsi 56. (a) *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, (b) *Bacillus* sp. dalam formulasi tapioca.

Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp.

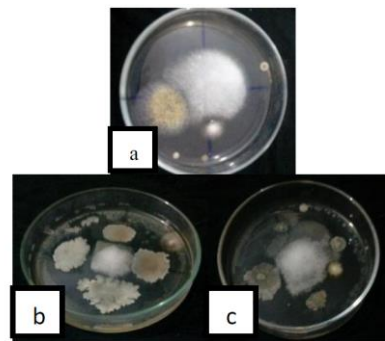
Bacillus sp. setelah formulasi masih mampu menghambat pertumbuhan *Colletotrichum* sp. Kemampuan *Bacillus* sp. setelah diformulasikan memiliki kemampuan hambatan yang berbeda-beda pada masing-masing formulasi dan lama penyimpanan (Gambar 15).

Daya hambat *Bacillus* sp. 1 hsi pada formulasi tepung tapioka berbeda tidak nyata terhadap *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras, jagung, dan talk. Daya hambat *Bacillus* sp. 14 hsi pada semua formulasi tepung tidak berbeda nyata. Daya hambat *Bacillus* sp. 28 hsi pada formulasi tepung tapioka berbeda tidak nyata terhadap *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beras, jagung, dan talk.

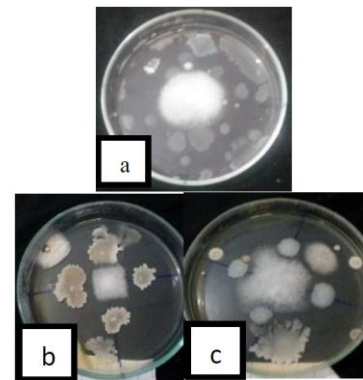


Gambar 15. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp.

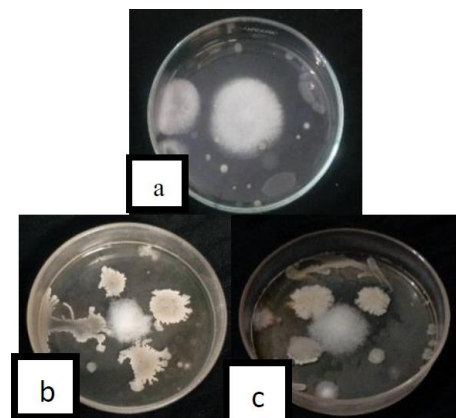
Daya hambat *Bacillus* sp. 42 hsi dan 56 pada formulasi tepung talk berbeda tidak nyata terhadap *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung beraas, jagung, tapioka. Daya hambat selama peyimpanan hingga 56 hsi yang tertinggi diperoleh pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung tapioka sebesar 62,9 % sedangkan terendah pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk sebesar 25,47 %.



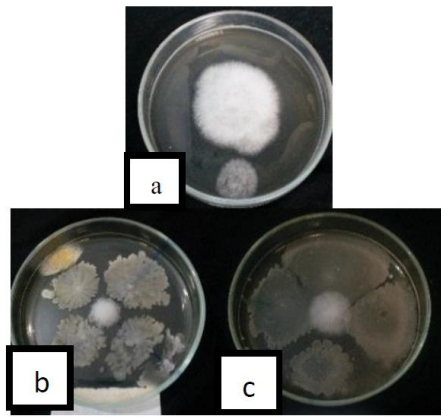
Gambar 16. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. pada 1 hsi (a) Koloni *Colletotrichum* sp. (b) Daya hambat *Bacillus* sp. terbesar (formulasi beras) (c) Daya hambat *Bacillus* sp. terkecil (formulasi tapioka).



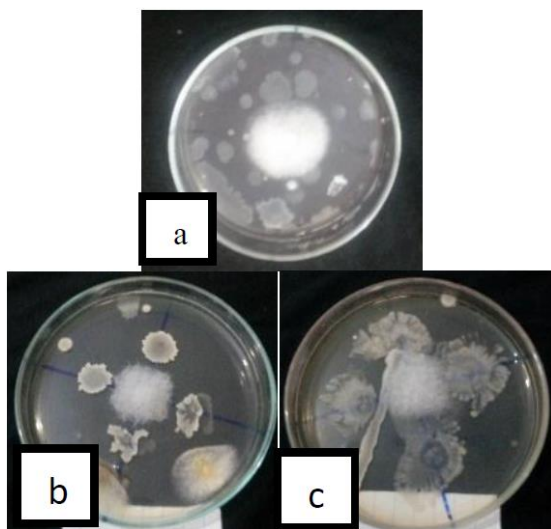
Gambar 17. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. pada 14 hsi (a) Koloni *Colletotrichum* sp. (b) Daya hambat *Bacillus* sp. terbesar (formulasi jagung) (c) Daya hambat *Bacillus* sp. terkecil (formulasi talk).



Gambar 18. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. pada 28 hsi (a) Koloni *Colletotrichum* sp. (b) Daya hambat *Bacillus* sp. terbesar (formulasi jagung) (c) Daya hambat *Bacillus* sp. terkecil (formulasi tapioka).



Gambar 19. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. pada 42 hsi (a) Koloni *Colletotrichum* sp. (b) Daya hambat *Bacillus* sp. terbesar (formulasi tapioka) (c) Daya hambat *Bacillus* sp. terkecil (formulasi talk).



Gambar 20. Daya hambat *Bacillus* sp. terhadap *Colletotrichum* sp. pada 56 hsi (a) Koloni *Colletotrichum* sp. (b) Daya hambat *Bacillus* sp. terbesar (formulasi tapioka) (c) Daya hambat *Bacillus* sp. terkecil (formulasi talk).

PEMBAHASAN

Populasi *Bacillus* sp. pada 1 hsi hingga 14 hsi mengalami kenaikan hal ini diduga karena *Bacillus* sp. mampu memanfaatkan urea dan glukosa yang ditambahkan didalam media formulasi. Kedua bahan tersebut mengandung nutrisi yang bisa langsung dimanfaatkan karena mengandung unsur sederhana. Menurut Aunstrup dalam Naiola (2002) bahwa bakteri membutuhkan nitrogen untuk meningkatkan pertumbuhannya sehingga dengan penambahan urea yang mengandung nitrogen dapat meningkatkan populasi *Bacillus* sp. Penambahan nutrisi glukosa memiliki fungsi sebagai sumber makanan tambahan untuk bakteri (Wahyudi, 2008).

Pertumbuhan *Bacillus* sp. pada setiap formulasi 14 hsi hingga 56 hsi mengalami penurunan hal tersebut diduga

karena *Bacillus* sp. tidak dapat memanfaatkan kandungan senyawa kompleks pada tepung dan adanya penurunan pH pada media formulasi. Menurut Sari dkk., (2012) penurunan pH disebabkan karena adanya mekanisme metabolit yang dihasilkan oleh bakteri yang menghasilkan asam laktat dan gas CO₂, asam laktat dan CO₂ diperoleh dari pemecahan glukosa sehingga semakin lama waktu inkubasi unsur tersebut semakin terakumulasi dan lama kelamaan bakteri akan mati.

Pada 1 hsi hingga 28 hsi zona hambat pada *Bacillus* sp. dalam semua formulasi tepung mengalami penurunan. Penurunan zona hambat ini diduga karena *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung masih mendegradasi nutrisi yang terkandung pada tepung. Zona hambat tertinggi pada 42 hsi yaitu pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung jagung, hal ini diduga karena adanya aktivitas enzim hidrolisis. Menurut Mukry *et al.*, dalam Prihatiningsih dan Heru (2016) enzim hidrolisis seperti α -amilase dan β -galactosidase dapat meningkat pada substrat seperti jagung, gandum dan beras sehingga dapat menghambat patogen

Daya hambat *Bacillus* sp. dalam semua formulasi tepung mengalami penurunan dari 1 hsi hingga 14 hsi, hal ini diduga karena *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung masih mendegradasi nutrisi yang terkandung pada formulasi tepung. Daya hambat tertinggi terdapat pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk pada 28 hsi yakni sebesar 53,1 % hal ini diduga karena *Bacillus* sp. mampu memanfaatkan unsur yang ada didalam tepung talk. Menurut Puspita dkk., (2012) mengatakan bahwa bahan aditif seperti talk dan kaolin mampu meningkatkan kemampuan *Bacillus* sp. sebagai agen antagonis.

Kemampuan daya hambat *Bacillus* sp. dalam formulasi pada 28 hsi hingga 42 hsi mengalami kenaikan daya hambat kecuali *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung talk, akan tetapi daya hambat tertinggi yaitu pada *Bacillus* sp. dalam formulasi tepung tapioka yaitu sebesar 62,9 %, hal ini diduga karena *Bacillus* sp. mampu memanfaatkan suatu nutrisi yang terkandung dalam formulasi tepung tapioka sehingga dapat mengaktifkan suatu senyawa support yang dapat digunakan untuk menghambat patogen. Menurut Pratama dkk., (2013) *B. subtilis* menghasilkan antibiotik dan antifungal untuk menghambat patogen seperti: subtilin, aterinin, baasitrin, subtilon, micobilin, subsporin, ituirin, serexin, surfaktin, basilomicin, bacilisin, asam sianida, fengimicin dan bacisocin.

KESIMPULAN

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.
 3. 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%.

DAFTAR PUSTAKA

- 'Aini, FN., Sri-sukamto, D. Wahyuni, G. Suhesti dan Q. Ayunin. 2013. Penghambatan pertumbuhan *Colletotrichum gleosporoides* oleh *Trichoderma harzianum*, *Trichoderma koningii*, *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens*. Pelita Perkebunan, 29(1): 44-52.
- 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. [Skripsi] Fakultas Pertanian. Universitas Jember.
- 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.
- 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, Endang, 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*. New York: Springer.
- Pratama, Sakti W., Sri-sukamto, I. N. Asyiah dan Y. V. Ervina. 2013. Penghambatan pertumbuhan jamur patogen kakao *Phytophthora palmivora* oleh *Pseudomonas fluorescens* 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.
- Puspita, F., F. Restuhadi dan D. Zul. 2012. Formulasi *Bacillus* sp. Sebagai Antimikroba dan Pupuk Organik. Riau: Universitas Riau.
- Saputra, Rachmad, Triwidodo A. dan Arif W. 2015. Uji Aktivitas antagonistik 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. Jurnal Kimia Khatulistiwa 1(1): 14-20.
- Wahyudi, Priyo. 2008. Produksi mikroinsektisida dari propagul kapang *Beauveria bassiana*. Jurnal Matematika, Sains dan Teknologi, 9(2): 66-79.
- Wati, FDA., SD. Nurcahyanti, dan HS. Addy. 2017. Eksplorasi *Bacillus* spp., dari perakaran kubis sebagai agen antagonis *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. Agritop, 15 (2). 217-225.
- 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.