

Kemangkusan Kandidat Biofungisida Berbahan Aktif Bakteri Antagonis terhadap *Fusarium oxysporum* pada *Phalaenopsis* (Effectiveness of Biofungicide Candidate with Bacteria Active Ingredient Againsts *Fusarium oxysporum* on *Phalaenopsis*)

I Djatnika, Hanudin, dan Wakiah Nuryani

Balai Penelitian Tanaman Hias, Jln. Raya Ciherang-Pacet, Cianjur, Jawa Barat, PO Box 8, Indonesia 43253

E-mail: kadjatni@yahoo.com

Naskah diterima tanggal 4 Februari 2016 dan disetujui untuk diterbitkan tanggal 2 Juni 2016

ABSTRAK. Layu fusarium yang disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* pada tanaman anggrek dapat menimbulkan kerusakan tanaman hingga mencapai 40%. Bakteri antagonis B 37 dan B 26 hasil isolasi dari tanaman anggrek efektif mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman anggrek masing-masing sebesar 65,3 dan 48,9%. Isolat bakteri tersebut belum diidentifikasi, diuji kompatibilitasnya, dan diaplikasikan masih dalam bentuk biakan murni. Tujuan penelitian ini ialah: (a) mengidentifikasi secara biokimia isolat bakteri B 26 dan B 37, (b) mendapatkan formulasi bahan pembawa organik yang kompatibel dengan isolat bakteri B 26 dan atau B 37, serta (c) mengendalikan *F. oxysporum* pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* dengan menggunakan kedua bakteri tersebut yang sudah dikemas dalam bahan pembawa. Hasil penelitian menunjukkan bahwa (a) hasil identifikasi secara biokimia bakteri B 26 dan B 37 ialah *Bacillus* spp., (b) semua bahan aktif calon biopestisida (*Bacillus* spp. B 26 dan B 37) kompatibel terhadap bahan pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal, tetapi kurang kompatibel pada media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal serta air steril, dan (c) perlakuan *Bacillus* spp. B26 atau B 37 dalam media pembawa yang mengandung karbohidrat dan protein minimal atau disuspensikan dalam air (disuspensikan dalam air setiap akan dilakukan perlakuan) yang diaplikasikan dengan merendam benih selama 1 jam yang kemudian diikuti dengan penyemprotan tanaman setiap 7 hari, efektif mengendalikan penyakit layu fusarium pada anggrek *Phalaenopsis*.

Kata kunci: *Phalaenopsis*; *Fusarium oxysporum*; Identifikasi; Kemangkusan; Biopestisida

ABSTRACT. Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* on orchid plants caused damage plants up to 40%. Antagonistics bacteria isolate B 37 and B 26 effectively control fusarium wilt on orchids respectively by 65.3 and 48.9%. The isolates has not been yet identified, tested for compatibility and are applied in the form of a pure culture. Purposes of the study were (a) identify bacteria isolates of B 26 and B37 biochemically, (b) obtain isolates of *Bacillus* spp. B 26 and or B 37 are compatible with the organic carrier, and (c) controlling of *F. oxysporum* on *Phalaenopsis* orchid plant by using both the bacteria that have been packaged in a carrier. The results showed that (a) results of biochemical identification, biopesticide active ingredient B 26 and B 37 concluded as bacteria of *Bacillus* spp., (b) all biopesticides active ingredient (*Bacillus* spp. B 26 and B 37) are compatible to the carrier material that contains carbohydrates and protein minimum, but not in carrier contains carbohydrates and protein optimum, as well in sterile water, and (c) the treatments of *Bacillus* spp. B 26 or B 37 were suspended in carrier of natural ingredients that contains carbohydrates and protein minimum or in sterile water (suspended in the water each will be treated) were applied by means of dipping of seedling for 1 hour and followed by spray on plants every 7 days, consistently suppress fusarium wilt on *Phalaenopsis* orchids.

Keywords: *Phalaenopsis*; *Fusarium oxysporum*; Identification; Effectiveness; Biopesticide

Tanaman anggrek merupakan komoditas pertanian yang bernilai ekonomi tinggi, karena tanaman ini dapat menjadi sumber pendapatan yang potensial bagi pelaku usaha dan devisa negara. Permasalahan utama dalam peningkatan produktivitas tanaman tersebut ialah layu fusarium. Layu fusarium pada tanaman anggrek disebabkan oleh *Fusarium oxysporum* (Djatnika 2012) dan dapat menimbulkan kerusakan tanaman hingga mencapai 40% (Nuryani et al. 2004). Hal tersebut sangat merugikan, oleh karena tanaman anggrek sangat dekat bersentuhan dengan manusia (misalnya di ruang tamu) sehingga patogen tersebut harus dikendalikan dengan menggunakan pestisida yang ramah lingkungan seperti biofungisida berbahan aktif mikrob antagonis.

Biofungisida merupakan produk agro-input berbahan aktif mikrob hidup (seperti bakteri atau cendawan yang bersifat antagonis terhadap jasad

sasaran), digunakan untuk mengendalikan atau menekan pertumbuhan dan perkembangan cendawan patogen. Hanudin et al. (2011) melaporkan bahwa biofungisida cair berbahan aktif *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dengan bahan pembawa organik efektif dapat mengendalikan penyakit layu fusarium pada anyelir. Dalam percobaan lain, biobakterisida berbahan aktif bakteri antagonis B7 dan B 30 berbahan pembawa organik yang mengandung protein dan karbohidrat terbukti kompatibel dan efektif mengendalikan penyakit busuk lunak (*Pectobacterium carotovorum* pv. *carotovorum*) pada anggrek dengan persentase penekanan masing-masing sebesar 41,55 dan 33,45% (Djatnika et al. 2011). Pada tahun 2010 telah dilakukan isolasi mikrob dari beberapa lokasi pertanaman hias. Setelah diuji sifat antagonistiknya, diperoleh dua isolat bakteri antagonis nomor B 26

dan B 37 yang efektif mengendalikan layu fusarium pada anggrek. Persentase daya hambat kedua bakteri antagonis tersebut terhadap layu fusarium masing-masing sebesar 48,9% dan 65,3% (Djatinika 2012). Isolat bakteri antagonis B 26 dan B 37 yang belum diidentifikasi dan belum menggunakan bahan pembawa yang kompatibel sehingga diaplikasikan masih dalam bentuk biakan murni yang disuspensikan dalam air suling. Hal ini, apabila diaplikasikan oleh petani sangat sulit karena sifat biakan murni bakteri antagonis dalam suspensi air suling cepat mengalami mutasi dan degradasi sehingga tidak dapat disimpan lama. Oleh karena itu, perlu melakukan identifikasi kedua isolat bakteri tersebut, mencari bahan pembawanya yang kompatibel, dan efektif mengendalikan *F. oxysporum* pada tanaman anggrek.

Tujuan penelitian ini ialah (a) mengidentifikasi secara biokimia bakteri isolat B 26 dan B 37 yang efektif mengendalikan *F. oxysporum* patogenik pada tanaman anggrek *Phalaenopsis*, (b) mendapatkan formulasi bahan pembawa organik (sebagai prototipe formulasi biofungisida) yang kompatibel dengan bakteri antagonis B 26 atau B 37, dan (c) mengendalikan *F. oxysporum* patogenik pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* dengan menggunakan kedua bakteri tersebut yang sudah dikemas dalam bahan pembawa. Hipotesis penelitian ini ialah bakteri isolat B 26 dan B 37 yang akan diketahui identitas taksonominya kompatibel dengan bahan pembawanya yang berasal dari campuran bahan tanaman yang mengandung karbohidrat dan protein, serta efektif mengendalikan layu fusarium pada tanaman anggrek *Phalaenopsis*.

BAHAN DAN METODE

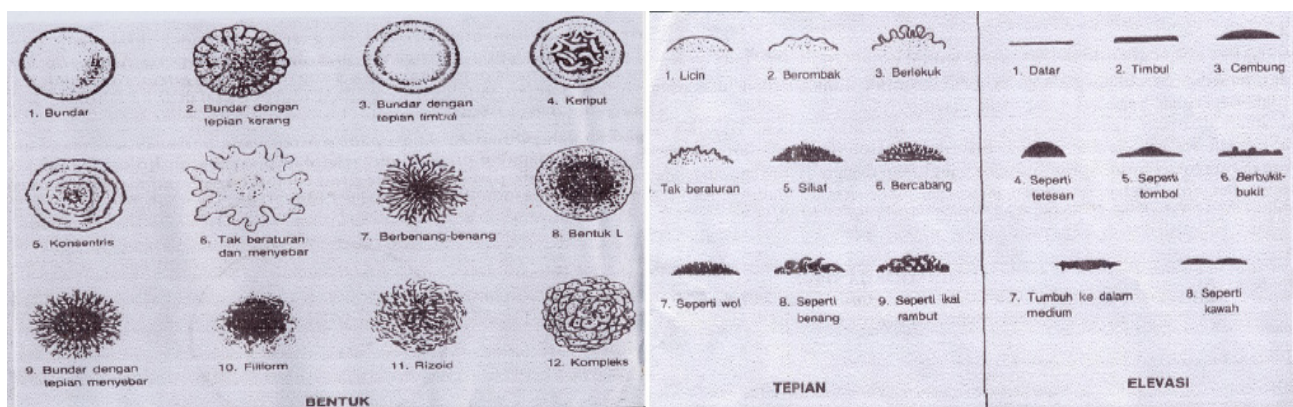
Waktu dan Tempat

Penelitian dilakukan sejak bulan April 2012 sampai dengan Maret 2014, di Laboratorium Biokontrol dan

Bakteriologi serta Rumah Kaca Balai Penelitian Tanaman Hias (Balithi) Segunung (1.100 m dpl.). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah isolat bakteri antagonis B 26 dan B 37 yang potensial mengendalikan layu fusarium pada tanaman anggrek hasil isolasi dari tanaman anggrek (Djatinika *et al.* 2010). Sebagai pembanding menggunakan isolat BHN 4 dan Pf 18 yang merupakan koleksi Laboratorium Bakteriologi Balithi. Untuk memperbanyak *F. oxysporum* patogenik menggunakan media *potato dextrose agar* (PDA), sedang untuk memperbanyak B 26 dan B 37 menggunakan media *nutrient agar* (NA) dan King's B (media KB), serta satu set media untuk identifikasi bakteri antagonis. Uji kemangkusan biofungisida menggunakan *Phalaenopsis* kelompok Midi yang berasal dari *meryclone* berumur 3 bulan dalam individual pot. Media pertumbuhan tanaman berupa campuran pakis, spagnum, dan arang kayu. Menggunakan pupuk majemuk cair, hormon pertumbuhan, dan insektisida. Penelitian ini terdiri atas tiga subkegiatan, yaitu: (1) identifikasi biokimia isolat bakteri antagonis, (2) uji kompatibilitas antara bahan aktif dan bahan pembawa biofungisida, dan (3) uji kemangkusan kandidat formulasi biofungisida terhadap layu fusarium pada anggrek *Phalaenopsis*.

Identifikasi Biokimia Isolat Bakteri Antagonis (B 26 dan B 37) yang Efektif Mengendalikan *Fusarium oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Dua isolat bakteri antagonis (B 26 dan B 37) serta satu isolat pembanding dari kelompok *Bacillus subtilis* nomor isolat BHN 4, dan satu isolat pembanding dari kelompok *fluorescens* (*Pseudomonas fluorescens* nomor isolat Pf 18) dibiakan pada media NA dan KB. Setelah mendapatkan biakan murni, kemudian dilakukan pengujian ciri - ciri koloni berdasarkan metode Price *et al.* (1999) di antaranya: bentuk, diameter, warna, elevasi, dan tepian (Gambar 1), setelah itu dilakukan identifikasi lanjutan.



Gambar 1. Acuan ciri - ciri bentuk koloni bakteri (warna, elevasi, dan tepian) (*Reference of characteristics of form bacteria colonies*) (Price *et al.* 1999)

Identifikasi lanjutan secara biokimia dilakukan berdasarkan metode Cowan & Steel's (1974) yang meliputi: reaksi gram, uji Levan, oksidase, pektinase, arginin hydrolase, dan hypersensitivitas pada daun tembakau (uji LOPAT).

Uji Kompatibilitas Antara Bahan Aktif dan Bahan Pembawa Biofungisida Organik dalam Pengendalian *F. oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Kompatibilitas yang dimaksud dalam percobaan ini merupakan kemampuan mikrob untuk hidup dan bertahan di dalam suatu media dalam waktu tertentu dengan tidak menurunkan efektivitasnya dalam mengendalikan patogen sarasannya. Kompatibilitas bahan aktif dalam bahan pembawa, diuji berdasarkan viabilitasnya. Kriteria kompatibel antara bahan aktif dan bahan pembawa didasarkan pada kemampuan spesies mikrob antagonis bertahan hidup di dalam satu media pada kondisi tertentu yang dibandingkan dengan kontrol (air steril) dan efektif mengendalikan patogen, dalam hal ini *F. oxysporum* pada *Phalaenopsis*.

Tata letak percobaan disusun dengan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL), terdiri atas tujuh kombinasi perlakuan (Tabel 1) dengan tiga ulangan. Perbanyakan propagul bakteri antagonis disiapkan dengan cara sebagai berikut: biakan murni B 26 dan B 37 yang telah dikoleksi di Laboratorium Biokontrol Balithi Segunung, masing-masing ditumbuhkan pada media NA dan KB, kemudian diinkubasikan. Setelah diinkubasikan dalam inkubator bersuhu $30 \pm 2^\circ\text{C}$ selama 24 jam, kemudian diambil tiga *loop* penuh dan disuspensikan ke dalam 10 ml air steril, dikocok menggunakan vorteks supaya homogen sehingga terbentuk suspensi dengan kerapatan 10^{12} cfu/ml. Satu ml suspensi isolat tersebut dituangkan ke dalam 500 ml media *nutrient broth* (NB) di dalam erlenmeyer berkapasitas 750 ml, kemudian dihangatkan di dalam penangas air bersuhu 30°C sambil digoyang pada kecepatan 3 rpm selama 24 jam.

Sel bakteri kemudian dipanen setelah dilakukan sentrifugasi dan disuspensikan ke dalam akuades steril. Selanjutnya 10% dari larutan propagul tadi dimasukkan ke dalam media perbanyakan massal.

Media perbanyakan massal sebagai bahan pembawa biofungisida. Bahan organik yang mengandung protein dan karbohidrat, dicuci, direbus, dan disterilkan pada suhu 121°C dengan tekanan 1,5 psi selama 15 menit menggunakan autoklaf, kemudian didinginkan. Setelah medium basal selesai dibuat, kemudian 10% suspensi bakteri antagonis kerapatan 10^9 cfu/ml dituangkan ke dalam medium tadi sesuai perlakuan, selanjutnya difermentasikan selama 10 hari, kemudian dihitung jumlah koloni bakterinya yang telah berkembang.

Pengamatan yang dilakukan meliputi, pengamatan viabilitas dihitung melalui pengenceran berseri berdasarkan metode Hsu *et al.* (1994) yang dimodifikasi. Biopestisida ini disimpan pada suhu ruang ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) dan pengamatan viabilitas bahan aktif dilaksanakan sebanyak tiga kali, yaitu sebelum fermentasi, sesaat setelah fermentasi berakhir (0 bulan pascafermentasi), dan 1 bulan setelah fermentasi.

Populasi bakteri antagonis dihitung menggunakan *colony counter* "Suntex" Model CC-560, nomor seri : 930 801 828. Kompatibilitas mikrob antagonis ditentukan berdasarkan kriteria standar mutu biopestisida yang dikeluarkan oleh Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian, Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2011). Menurut Basuki & Suharyanto (2003) populasi bahan aktif harus dapat bertahan disimpan minimal selama 6 bulan dengan populasi paling sedikit 10^7 cfu/ml dan masih efektif mengendalikan patogen sasaran.

Uji Kemangkusan Kandidat Biofungisida Berbahan Aktif Bakteri Antagonis terhadap *F. oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Isolat bakteri yang telah dibiakkan pada media NA atau KB, masing-masing disuspensikan ke

Tabel 1. Kombinasi perlakuan antara bahan aktif dan pembawanya terhadap viabilitas bakteri antagonis (Combination the active ingredient and the carrier on the viability of bacterial antagonist treatments)

Perlakuan (Treatments)	Keterangan (Annotation)
B ₁ M ₁	B ₁ = Bakteri isolat nomor B 26
B ₁ M ₂	B ₂ = Bakteri isolat nomor B 37
B ₁ M ₃	
B ₂ M ₁	M ₁ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal
B ₂ M ₂	M ₂ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal
B ₂ M ₃	M ₃ = Air suling steril
Kontrol (M ₃) (Control)	* Media pembawa merupakan air rebusan rumput laut (sumber karbohidrat dan protein) dan ikan teri (sumber protein) yang telah diblender (masing-masing 1% untuk M ₁ , dan 20% untuk M ₂). Media pembawa yang efektif direncanakan untuk diajukan hak patennya

dalam bahan organik yang mengandung karbohidrat dan protein minimal (M_1) atau optimal (M_2). Selanjutnya semua perlakuan (kecuali perlakuan kontrol) diaplikasikan pada tanaman anggrek (Tabel 2). Varietas anggrek yang digunakan ialah *Phalaenopsis* kelompok Midi yang dibiakkan secara *meryclone* berumur 7 bulan setelah inisiasi, bunga berwarna putih diperoleh dari perusahaan anggrek PT Ekarya Graha Flora Cikampek. Anggrek ditanam dalam pot plastik diameter 20 cm, berisi campuran spagnum, pakis, dan arang (1:1:1 dalam volume). Anggrek dipelihara dalam kondisi terkontrol di rumah kaca biokontrol, sesuai standar operasional prosedur (SOP) budidaya anggrek.

Unit percobaan yang digunakan ialah setiap tanaman anggrek. Jumlah perlakuan 20 (Tabel 2) dengan tiga ulangan. Setiap unit terdiri atas lima tanaman anggrek sehingga jumlah tanaman yang digunakan pada percobaan ini 300 tanaman individual pot. Aplikasi biofungisida dilakukan secara *dipping* akar selama 1 jam yang dilakukan 2 hari sebelum diinokulasi *F. oxysporum*, dan dilanjutkan dengan cara penyemprotan atau kocor setiap 15 hari sampai dengan tanaman berbunga (Duijff *et al.* 1999).

Pengamatan yang dilakukan dalam percobaan ini meliputi: (1) waktu inkubasi (WI) dan (2) intensitas

serangan (IS) penyakit layu. Waktu isian adalah saat penetrasi patogen sampai dengan munculnya gejala serangan layu yang diamati setiap hari, dimulai 1 hari setelah inokulasi (HSI) sampai seluruh tanaman anggrek pada perlakuan kontrol terinfeksi, sedangkan IS adalah kisaran intensitas serangan patogen, diamati setiap 7 hari sampai 4 bulan setelah tanam (BST) diperoleh dari data jumlah tanaman layu (JTL).

Data JTL dihitung dengan menggunakan rumus berikut: $P = (Jtl/Jtp) \times 100\%$, di mana Jtl = jumlah tanaman layu/ulangan, Jtp = jumlah tanaman/ulangan. Data yang dikumpulkan dianalisis dengan menggunakan program STX, dan untuk mengetahui perbedaan rerata antarperlakuan akan digunakan uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95%. Selain pengamatan tersebut di atas, dihitung persentase penekanan dan frekuensi konsistensi keefektifan akibat aplikasi biofungisida sebagai bahan pertimbangan kriteria efikasi.

Frekuensi konsistensi keefektifan menunjukkan tingkat stabilitas keefektifan suatu perlakuan dalam rentang waktu pengamatan tertentu (pada penelitian ini antara 24 sampai dengan 114 HSA), terhadap parameter pengamatan tertentu. Dalam penelitian ini dihitung berdasarkan data waktu inkubasi yang

Tabel 2. Kombinasi perlakuan bakteri, media pembawa, dan waktu aplikasi (Combination of bacterial, carrier, and time application treatments)

Perlakuan (Treatments)	Keterangan (Annotation)
$B_1 M_1 W_1$	$B1 =$ Bakteri antagonis no isolat B 26
$B_1 M_1 W_2$	$B2 =$ Bakteri antagonis no isolat B 37
$B_1 M_1 W_3$	$B3 =$ Fungisida propamokab hidroksida 722 g/l
$B_1 M_2 W_1$	$M_1 =$ Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal
$B_1 M_2 W_2$	$M_2 =$ Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal
$B_1 M_2 W_3$	$M_3 =$ Air suling steril
$B_1 M_3 W_1$	$W_1 =$ Aplikasi formulasi bakteri antagonis dilakukan 2 hari sebelum inokulasi <i>F. oxysporum</i> , tanpa diikuti dengan celup benih (hanya satu kali aplikasi)
$B_1 M_3 W_2$	$W_2 =$ Aplikasi formulasi bakteri antagonis dilakukan 2 hari sebelum inokulasi <i>F. oxysporum</i> , dengan cara celup benih selama 1 jam, kemudian diikuti dengan cara <i>spraying</i> pada jaringan tanaman (akar, batang dan daun) interval 7 hari
$B_1 M_3 W_3$	$W_3 =$ Aplikasi formulasi bakteri antagonis dilakukan 2 hari sebelum inokulasi <i>F. oxysporum</i> dengan celup benih selama 1 jam, kemudian diikuti dengan cara <i>spraying</i> pada jaringan tanaman (akar, batang dan daun) interval 14 hari
$B_2 M_1 W_1$	* Media pembawa merupakan air rebusan rumput laut (sumber karbohidrat dan protein) dan ikan teri (sumber protein) yang telah diblender (masing-masing 1% untuk M_1 , dan 20% untuk M_2). Media pembawa yang efektif direncanakan untuk diajukan hak patennya
$B_2 M_1 W_2$	
$B_2 M_1 W_3$	
$B_2 M_2 W_1$	
$B_2 M_2 W_2$	
$B_2 M_2 W_3$	
$B_2 M_3 W_1$	
$B_2 M_3 W_2$	
$B_2 M_3 W_3$	
$B_3 M_3 W_2$	$B_3 M_3 W_2 =$ Pembanding
	(Comparison)
	Kontrol/air steril (Control/sterile water)

Persentase penekanan dihitung berdasarkan rumus: $PP = \Sigma(K - T)/K \times 100 \%$, di mana PP = persentase penekanan, K = kontrol, dan T = perlakuan

lama, penekanan intensitas serangan di bawah kontrol dan signifikansinya yang tinggi, serta kompatibilitas antara bahan aktif dengan bahan pembawanya, dan populasi bahan aktif pada pengamatan 7 bulan setelah fermentasi yang paling besar.

Setiap perlakuan yang menunjukkan keunggulan (efektif) pada kolom frekuensi diberi nilai 1, sedangkan sebaliknya diberi nilai 0, kemudian masing-masing perlakuan frekuensi keunggulannya dijumlahkan. Perlakuan yang menunjukkan frekuensi keunggulan yang paling besar, dinyatakan perlakuan yang paling konsisten keefektifannya dalam menekan layu fusarium pada anggrek.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi Biokimia Isolat Bakteri Antagonis (B 26 dan B 37) yang Efektif Mengendalikan *F. oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Hasil identifikasi biokimia menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji (B 26 dan B 37) masing-masing pada umur 2 hari setelah investasi, warna koloni krem dengan ukuran 2–3 mm (sama dengan isolat pembanding BHN 4), kecuali isolat pembanding *P. fluorescens* nomor isolat 18 berwarna hijau berpendar pada media KB dengan ukuran yang sama seperti isolat lainnya (Gambar 2). Hal ini disebabkan oleh *pyoverdins*, yaitu zat pengkelat besi yang diproduksi oleh bakteri kelompok *fluorescens* yang tumbuh pada media yang miskin ion besi (Alemu 2013). Adapun bentuk, tepian, dan elevasi koloni semua isolat menunjukkan bundar, licin, dan timbul agak kasar, kecuali Pf 18 (isolat pembanding) dengan tepian timbul dan halus. Isolat B 26, B 37, dan BHN 4 menunjukkan reaksi gram positif (+), sedangkan Pf 18 ber-gram negatif (Tabel 3).

Dinding sel gram negatif terdiri atas tiga lapisan, sedang gram positif hanya satu lapisan homogen. Susunan kimia dinding sel bakteri gram positif 86%

atau lebih terdiri atas mukopeptide dan senyawa-senyawa polisakarida sederhana, seperti asam teichoat (Leoff *et al.* 2009). Salah satu sifat polisakarida ialah terbentuknya gel apabila bereaksi dengan KOH (Ahmed *et al.* 2015). Pada bakteri gram negatif kandungan mukopeptidanya 3–12% dari total bobot kering (Pedro & Cava 2015).

Mukopeptide adalah senyawa kimia yang tersusun dari unit n-acetyl glucosamine (nag) dan n-acetyl muramic acid (nam) yang terikat dalam susunan b, 1–4 (Markiewicz & Popowska 2011). Kompleks mukopeptide sering disebut dengan nama murein (Vollmer & Joachim 2004). Berdasarkan hasil identifikasi tersebut, B 26 dan B 37 disimpulkan sebagai bakteri genus *Bacillus* spp. Menurut Zaim *et al.* (2013), *Bacillus* sp. menghasilkan senyawa *metabolit volatile* yang dapat menekan pertumbuhan hifa *F. oxysporum* sampai 40%, dan pada uji skala pot isolat bakteri itu mampu menekan intensitas penyakit layu pada tanaman *Cicer arietinum* yang disebabkan *F. oxysporum* antara 60 sampai dengan 90%, dan pada pengujian lapangan dapat menekan sampai 98%.

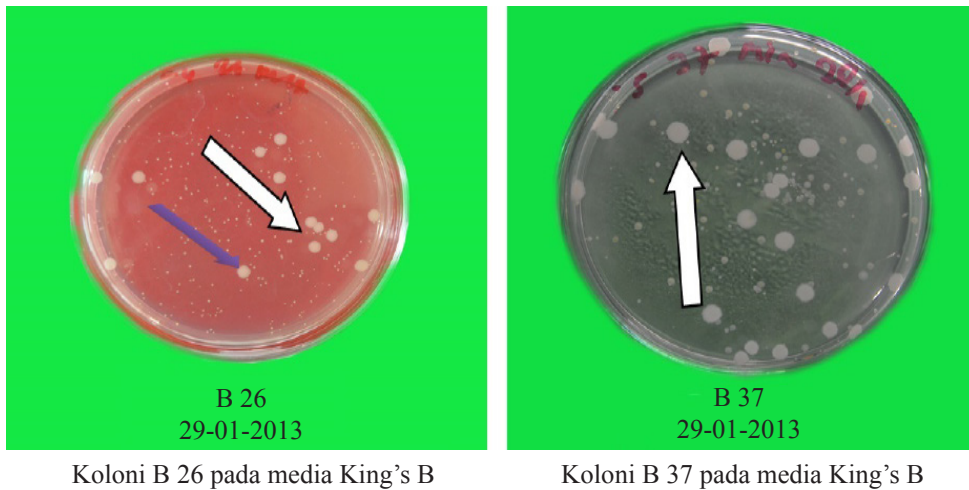
Selain dapat menekan penyakit, isolat bakteri juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman *C. arietinum*. Kedua bakteri kandidat bahan aktif biofungisida, *Bacillus* spp. tidak bersifat fitopatogenik. Hal tersebut berdasarkan hasil uji pada tanaman tembakau keduanya tidak menimbulkan gejala penyakit (Tabel 3). Dengan demikian, kedua bakteri itu aman terhadap pertumbuhan tanaman dan dapat digunakan sebagai biofungisida.

Uji Kompatibilitas antara Bahan Aktif (Bakteri B 26 dan B 37) dan Bahan Pembawa Biofungisida Organik dalam pengendalian *F. oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Pengamatan terhadap kompatibilitas bahan aktif biopestisida dalam bahan pembawa telah dilaksanakan sebanyak delapan kali, yaitu 1 hari setelah pembuatan biopestisida atau 0 bulan, dan

Tabel 3. Karakteristik biokimia beberapa isolat bakteri antagonis (*Biochemistry character of some antagonistics bacteria isolates*)

Kode isolat (Isolates code)	Pertumbuhan koloni pada media King's B (Growth of the colony on B King's media)					Reaksi gram (Gram reaction)	Degradasi pektin (Pectine degradation)	Hipersensivitas pada tembakau (Hypersensitivity in tobacco)	Kesimpulan (Conclusion) Genus
	Ukuran (Diameter) mm	Bentuk (Form)	Warna (Color)	Tepian (Periphery)	Elevasi (Elevation)				
B 26	2–3	Bundar	Krem	Licin	Timbul agak kasar	+	-	-	<i>Bacillus</i> spp.
B 37	2–3	Bundar	Krem	Licin	Timbul agak kasar	+	-	-	<i>Bacillus</i> spp.
BHN 4	2–3	Bundar	Krem	Licin	Timbul agak kasar	+	-	-	<i>Bacillus</i> spp.
Pf 18	2–3	Bundar	Hijau berpendar	Licin	Timbul halus	-	-	-	<i>Pseudomonas fluorescens</i>



Gambar 2. Pertumbuhan bakteri isolat B 26 dan B 37 pada media King's B (*Growth of isolates bacteria B 26 and B 37 on B King's media*)

setiap bulan hingga 7 bulan setelah fermentasi. Tolok ukur pengamatan kompatibilitas ialah jumlah populasi bakteri bahan aktif (B 26 dan B 37) di dalam media pembawa (media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal (M_1) dan media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal (M_2) dibandingkan dengan populasi bakteri bersangkutan yang disuspensikan ke dalam air steril (M_3).

Data hasil penghitungan dinamika populasi bakteri B 26 dan B 37 disajikan pada Tabel 4. Pada Tabel tersebut diketahui bahwa populasi awal (0 bulan) bakteri bahan aktif rerata 10^{12} cfu/ml, menurun menjadi $10^4 - 10^9$ cfu/ml pada 7 bulan setelah pembuatan. Semua bakteri bahan aktif biopestisida (B 26 dan B 37) kompatibel terhadap bahan pembawa M_1 , kecuali terhadap M_2 dan M_3 karena populasi bahan aktif biofungisida setelah 7 bulan disimpan ialah 10^9 cfu/ml (lebih besar dari yang disyaratkan oleh Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian (2011), yaitu 10^7 cfu/ml). Sejalan dengan hal tersebut, Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian, Kementerian Pertanian Republik Indonesia (2011) menjelaskan bahwa apabila suatu produk biopestisida akan dikomersilkan maka formulator diwajibkan memberikan informasi sifat mutu dari produk tersebut. Adapun informasi mutu yang diperlukan ialah kompatibilitas dan viabilitas bahan aktif dalam bahan pembawa, efektivitas terhadap patogen sasaran serta daya simpan. Informasi daya simpan merupakan tolok ukur masa kedaluwarsa dari produk tersebut, yaitu paling sedikit tahan disimpan selama 6 bulan dengan kandungan bahan aktif minimal 10^7 cfu/ml (Basuki & Suharyanto 2003).

Populasi bakteri B 26 dan B 37 yang disuspensikan dalam media pembawa M_2 dan M_3 setelah disimpan selama 7 bulan masing-masing yaitu 10^6 cfu/ml (B 26 M_2), 10^5 cfu/ml (B 26 M_3), 10^6 cfu/ml (B 37 M_2), dan 10^4 cfu/ml (B 37 M_3). Hal ini diduga disebabkan oleh bakteri bahan aktif biopestisida tidak kompatibel terhadap bahan pembawa yang mengandung bahan makanan optimal (M_2) dan yang sama sekali tidak mengandung bahan makanan (M_3 = air suling steril).

Pada media yang mengandung bahan makanan optimal menyebabkan pertumbuhan bakteri bahan aktif sangat cepat sehingga menimbulkan pertumbuhan populasi yang sangat cepat pula. Dengan adanya peningkatan populasi bakteri dalam suatu media, akan terjadi kompetisi ruang dan makanan sehingga akan berakibat saling menekan satu sama lainnya. Hal ini berakibat penurunan populasi pada 7 bulan setelah pembuatan biopestisida menjadi 10^6 cfu/ml pada media M_2 .

Pada media M_3 populasi bakteri B 26 dan B 37, menurun drastis pada pengamatan 7 bulan. Populasi awal 0 bulan masing-masing 10^{12} cfu/ml, menurun menjadi masing-masing 10^5 dan 10^4 cfu/ml pada akhir pengamatan. Hal ini diduga disebabkan bakteri tersebut tidak berkembang, akibat tidak adanya cadangan makanan di dalam media.

Uji Kemangkusan Biofungisida Berbahan Aktif Bakteri Antagonis terhadap *Fusarium oxysporum* pada Anggrek *Phalaenopsis*

Serangan *F. oxysporum* pada tanaman anggrek *Phalaenopsis* menunjukkan gejala luar berupa layu pada sejumlah daun. Hal ini diduga karena terganggunya jaringan xilem ke seluruh bagian tanaman sebagai akibat terjadinya kerusakan jaringan tersebut (Zhang *et al.* 2015). Menurut Selim & El-

Tabel 4. Dinamika populasi agens biokontrol dalam berbagai komposisi formulasi biopestisida (*Population dynamics of biocontrol agents in various biopesticide formulation composition*)

Perlakuan (Treatments)	Populasi bakteri pada bulan ke- (<i>Population of bacteria in-month</i>), cfu/ml								
	0	1	2	3	4	5	6	7	
B 26 M ₁	4,7 ± 2,5x10 ¹²	3,7±1,2 x 10 ¹²	9,5±5,7 x 10 ¹¹	4,7±2,9 x 10 ¹¹	7,9±5,5 x 10 ¹⁰	7,7±6,1x10 ¹⁰	6,9±5,7x10 ⁹	6,1±5,0 x 10 ⁹	
B 26 M ₂	3,7 ± 2,1x10 ¹²	9,7±5,6 x 10 ¹¹	7,7 ±3,9x 10 ¹¹	9,8±7,3 x 10 ¹⁰	7,7±4,7 x 10 ⁹	5,7±4,2x 10 ⁹	8,7±6,3x10 ⁸	7,9±5,2 x 10 ⁶	
B 26 M ₃	5,3 ± 3,5x10 ¹²	7,9±6,7 x 10 ¹⁰	6,3±2,9 x 10 ⁹	4,3±3,1 x 10 ⁸	5,3±3,9 x 10 ⁷	7,5±5,7x 10 ⁶	8,3±7,2x10 ⁵	5,2±3,7 x 10 ⁵	
B 37 M ₁	3,5 ± 1,7x10 ¹²	2,5±1,3 x 10 ¹²	9,5±7,7 x 10 ¹¹	7,5±5,7 x 10 ¹⁰	5,5±3,5 x 10 ¹⁰	3,5±2,5x10 ¹⁰	8,7±6,2x10 ⁹	7,5±5,3 x 10 ⁹	
B 37 M ₂	3,3±1,2x10 ¹²	9,3±8,2 x 10 ¹¹	7,3±5,2 x 10 ¹¹	9,3±7,9 x 10 ¹⁰	3,3±2,1 x 10 ⁹	5,9±3,7x 10 ⁸	3,3±1,7x10 ⁷	3,7±2,3 x 10 ⁶	
B 37 M ₃	5,15±3,7x10 ¹²	7,1±4,7 x 10 ¹¹	5,1±3,5 x 10 ¹⁰	7,9±3,5 x 10 ⁸	7,1±6,7 x 10 ⁷	4,1±3,5x 10 ⁶	4,9±2,5x10 ⁵	5,1±3,9 x 10 ⁴	
Kontrol/ air steril (Control/ sterile water)	0	0	0	0	0	0	0	0	
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B26 terhadap media M ₁ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁹ cfu/ml = Kompatibel
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B26 terhadap media M ₂ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁶ cfu/ ml = Tidak kompatibel
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B26 terhadap media M ₃ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁵ cfu/ ml = Tidak kompatibel
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B37 terhadap media M ₁ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁹ cfu/ml = kompatibel
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B37 terhadap media M ₂ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁶ cfu/ ml = Tidak kompatibel
Kompatibilitas bakteri antagonis No. isolat B37 terhadap media M ₃ , pada pengamatan 7 bulan setelah pembuatan									10 ⁴ cfu/ ml = Tidak kompatibel

B 26 = *Bacillus* spp. no isolat 26 B 37 = *Bacillus* spp. no isolat 37

M₁ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal (*Media formulation of natural ingredients that contain minimum carbohydrates and protein*)

M₂ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal (*Media formulation of natural ingredients that contain carbohydrates and protein optimum*)

Gammal (2015), kelayuan tanaman yang terinfeksi *Fusarium* disebabkan oleh toksin asam fusarat yang diekskresikan oleh patogen tersebut selama proses infeksi. Toksin ini dapat menghambat fungsi mitokondria dan menekan enzim katalase, serta mengganggu membran sel yang dapat mengakibatkan kebocoran ion.

Intensitas serangan *F. oxysporum* pada tanaman *Phalaenopsis* bervariasi bergantung pada kemangkusan masing-masing perlakuan. Intensitas serangan tersebut bergeser antara 6,03 dan 68,27%, dengan waktu inkubasi berkisar antara 24 dan 25 hari setelah aplikasi (HSA) (Tabel 5). Perlakuan B 26 yang disuspensikan ke dalam media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal dan diaplikasikan dengan cara *spraying* pada jaringan tanaman (akar, batang, dan daun) interval 7 hari (B₁M₁W₂), B₁M₁W₃, B₂M₁W₂, B₂M₂W₃, dan perlakuan pembandingan (B₃M₃W₂) menunjukkan waktu inkubasi yang paling lama, yaitu 25 HSA, sedangkan waktu inkubasi perlakuan lainnya ialah 24 HSA dan di antara perlakuan tersebut tidak berbeda nyata. WI adalah waktu yang diperlukan oleh suatu patogen dimulai

sejak penetrasi pada tanaman inang sampai timbulnya gejala penyakit (Aliah et al. 2015). Di samping itu WI dapat menunjukkan tingkat keefektifan suatu pengobatan (Khaerati & Ihwan 2011), yaitu apabila WI lama (tinggi), maka obat tersebut cenderung efektif mengendalikan patogen dan sebaliknya.

Pada pengamatan umur 24 sampai dengan 114 HSA (tujuh kali pengamatan), tampak bahwa perlakuan B 37 yang disuspensikan ke dalam media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal, diaplikasi 2 hari sebelum inokulasi fusarium, dengan cara celup benih selama 1 jam, kemudian diikuti dengan cara *spraying* pada jaringan tanaman (akar, batang, dan daun) interval 7 hari (B₂M₁W₂), merupakan perlakuan yang paling efektif mengendalikan layu fusarium dengan intensitas serangan yang paling rendah dan persentase penekanan yang paling besar (masing-masing 42,20% dan 38,19%).

Intensitas serangan perlakuan tersebut tidak berbeda nyata dengan intensitas serangan dan penekanan pada perlakuan B₁M₁W₂, dan perlakuan pembandingan (B₃M₃W₂) dengan intensitas serangan

Tabel 5. Waktu inkubasi dan intensitas serangan layu fusarium pada *Phalaenopsis* yang mendapat perlakuan beberapa formulasi biopestisida yang berbeda (*Incubation times and fusarium wilt disease intensity on Phalaenopsis which have had different biopesticide formulation*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Waktu inkubasi (<i>Incubation period</i>) hari (<i>day</i>)	Intensitas penyakit layu fusarium pada anggrek pada pengamatan hari ke (<i>Fusarium wilt disease intensity on day at conservation</i>), %						
		24	39	54	69	84	99	114
B ₁ M ₁ W ₁	24	10,20 b	37,87 b	38,20 b	46,93 b	46,40 b	56,73 a	57,33 a*
B ₁ M ₁ W ₂	25	6,89 c	30,27 b	31,07 c	41,60 b	42,93 b	43,17 b	43,67 b
B ₁ M ₁ W ₃	25	7,00 c	42,60 a	41,87 a	47,60 b	51,27 a	59,20 a	59,53 a
B ₁ M ₂ W ₁	24	18,67 a	40,87 a	39,53 b	45,87 b	46,40 b	52,00 a	52,27 a
B ₁ M ₂ W ₂	24	13,87 b	36,93 b	41,07 a	45,87 b	45,87 b	48,27 b	65,80 a
B ₁ M ₂ W ₃	24	10,00 b	36,73 b	36,07 b	49,93 a	54,07 a	56,73 a	56,93 a
B ₁ M ₃ W ₁	24	14,33 b	42,33 a	39,33 b	52,33 a	53,00 a	58,73 a	68,27 a
B ₁ M ₃ W ₂	24	10,53 b	30,87 b	34,27 b	44,67 b	46,93 a	47,20 b	47,67 b
B ₁ M ₃ W ₃	24	9,87 c	38,67 a	38,33 b	46,40 b	48,07 a	48,13 b	48,67 b
B ₂ M ₁ W ₁	24	10,33 b	37,27 b	40,93 a	46,80 b	47,93 a	48,13 b	49,67 b
B ₂ M ₁ W ₂	25	6,03 c	30,27 b	32,40 c	40,93 b	41,93 b	42,20 b	42,20 b
B ₂ M ₁ W ₃	24	15,67 a	38,87 a	37,00 b	47,00 b	47,00 a	47,07 b	47,20 b
B ₂ M ₂ W ₁	24	13,00 b	35,20 b	36,27 b	47,60 b	48,73 a	49,47 b	49,50 b
B ₂ M ₂ W ₂	24	16,00 a	41,20 a	45,00 a	58,67 a	60,33 a	60,40 a	60,80 a
B ₂ M ₂ W ₃	25	10,00 c	31,07 b	37,73 b	47,73 b	48,87 a	49,07 b	49,40 b
B ₂ M ₃ W ₁	24	17,20 a	37,87 b	32,73 c	43,13 b	44,47 a	45,40 b	45,80 b
B ₂ M ₃ W ₂	24	11,33 b	37,07 b	41,60 a	48,40 b	48,40 a	44,33 b	45,07 b
B ₂ M ₃ W ₃	24	6,57 c	35,27 b	34,60 b	50,13 a	53,73 a	54,60 a	54,87 a
B ₃ M ₃ W ₂ = Pembanding (<i>Comparison</i>)	25	16,87 a	38,87 a	37,67 b	40,53 b	41,87 b	41,87 b	41,87 b
Kontrol/air steril (<i>Control/sterile water</i>)	24	19,40 a	39,00 a	42,13 a	59,87 a	59,20 a	67,40 a	68,27 a
KK (<i>CV</i>), %		10,97	12,57	11,35	15,47	17,59	11,47	19,27

M₁ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal (*Media formulation of natural ingredients that contain minimum carbohydrates and protein*)

M₂ = Media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein optimal (*Media formulation of natural ingredients that contain carbohydrates and protein optimum*)

M₃ = Air suling steril (*sterile distilled water*)

TMF = Tidak dapat menekan *F. oxysporum* (*No suppressing*)

- = Kontrol = 0 (no)

* = Angka rata-rata yang diikuti huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut uji jarak berganda Duncan pada taraf nyata 95% (*Mean followed by the same letters are not significantly different at 95% level according to Duncan multiple range test*)

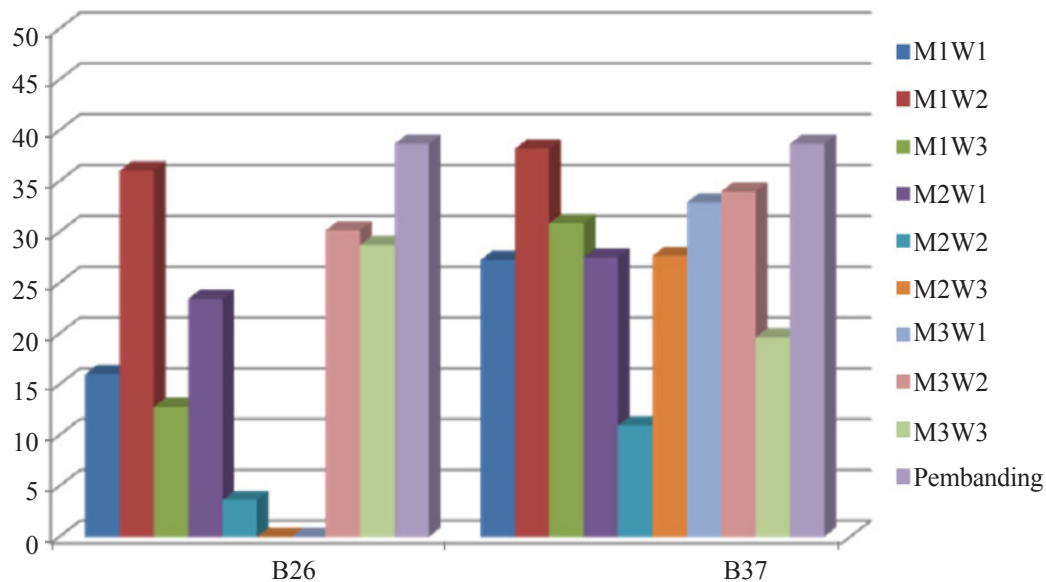
masing-masing 43,67 % dan 41,87%, serta penekanan masing-masing 36,03% dan 38,67% (Tabel 5 dan Gambar 3).

Frekuensi Keefektifan Biofungisida

Pada percobaan ini, yang menjadi tolok ukur frekuensi keefektifan biofungisida ialah: (a) data viabilitas pada bulan ketujuh (berpopulasi $\geq 10^7$ cfu/ml) dan antara bahan aktif dan bahan pembawa yang kompatibel (Tabel 4), (b) waktu inkubasi yang lama (\geq

25 hari) dan persentase penekanan intensitas serangan yang paling tinggi ($> 36\%$) pada pengamatan 114 HSA (Tabel 6).

Berdasarkan tabel tersebut, diperoleh hasil frekuensi keefektifan biofungisida secara komprehensif ialah sebagai berikut: dua perlakuan biofungisida yang konsisten dapat menekan penyakit layu fusarium pada anggrek, yaitu perlakuan B₁M₁W₂ dan B₂M₁W₂ (Gambar 3), kedua perlakuan tersebut



Gambar 3. Penekanan masing-masing perlakuan dibanding kontrol (*Suppressing each treatments compared with control*)

Tabel 6. Frekuensi keefektifan beberapa perlakuan biofungisida terhadap intensitas serangan penyakit layu fusarium pada anggrek (*Frequency of the effectiveness of some biofungicide against fusarium wilt on orchids*)

Perlakuan (<i>Treatments</i>)	Frekuensi keefektifan beberapa perlakuan biofungisida terhadap parameter pengamatan (<i>The effectiveness of some fungicide frequency of the observation parameters</i>)				Total frekuensi keefektifan (<i>Total Frequency effectiveness</i>)
	Viabilitas dan kompatibilitas (<i>Viability and compatibility</i>)		Waktu inkubasi dan intensitas serangan (<i>Incubation time and disease intensity</i>)		
	Populasi pada 7 bulan ($\geq 10^7$ cfu/ml)	Kompatibel terhadap bahan aktif dan pembawa (<i>Compatible with active material and carrier</i>)	Waktu inkubasi 25 hari/days	Penekanan (<i>Suppression</i>) (> 36%)	
B ₁ M ₁ W ₁	1	1	0	1	3
B ₁ M ₁ W ₂	1	1	1	1	4
B ₁ M ₁ W ₃	1	1	1	0	3
B ₁ M ₂ W ₁	0	0	0	1	1
B ₁ M ₂ W ₂	0	0	0	0	0
B ₁ M ₂ W ₃	0	0	0	0	0
B ₁ M ₃ W ₁	0	0	0	0	0
B ₁ M ₃ W ₂	0	0	0	0	0
B ₁ M ₃ W ₃	0	0	0	1	1
B ₂ M ₁ W ₁	1	1	0	1	3
B ₂ M ₁ W ₂	1	1	1	1	4
B ₂ M ₁ W ₃	1	1	0	0	2
B ₂ M ₂ W ₁	0	0	0	0	0
B ₂ M ₂ W ₂	0	0	0	0	0
B ₂ M ₂ W ₃	0	0	1	0	1
B ₂ M ₃ W ₁	0	0	0	0	0
B ₂ M ₃ W ₂	0	0	0	1	1
B ₂ M ₃ W ₃	0	0	0	0	0
B ₃ M ₃ W ₂ = Pembanding (<i>Comparison</i>)	0	0	1	1	2
Kontrol/air steril) (<i>Control/sterile water</i>)	0	0	0	0	0



Serangan layu fusarium pada perlakuan $B_1M_1W_1$

Serangan layu fusarium pada perlakuan $B_2M_1W_2$

Serangan layu fusarium pada perlakuan kontrol

Gambar 4. Perlakuan yang konsisten ($B_1M_1W_1$ dan $B_2M_1W_2$) efektif mengendalikan layu *fusarium* bila dibanding perlakuan kontrol (*Treatments were consistent effectively to control fusarium wilt*)

menunjukkan jumlah frekuensi keunggulan yang paling tinggi, yaitu empat kali, unggul terhadap semua parameter pengamatan viabilitas, kompatibilitas, waktu inkubasi, dan penekanan masing-masing $6,1 \pm 5,0 \times 10^9$ dan $7,5 \pm 5,3 \times 10^9$ cfu/ml, kompatibel, 25 HSA, 36,03 dan 38,19%. Sementara perlakuan lainnya menunjukkan frekuensi keefektifan antara 0 dan 3 kali (Tabel 4). Perlakuan - perlakuan tersebut ialah $B_1M_1W_1$ dan $B_2M_1W_2$, masing-masing unggul pada hampir semua parameter pengamatan, kecuali pada parameter pengamatan waktu inkubasi (24 HSA).

Perlakuan lainnya ialah $B_1M_1W_3$, perlakuan tersebut tidak unggul hanya pada parameter pengamatan persentase penekanan yang menunjukkan 12,18% (<36%).

Isolat B 26 dan B 37 diidentifikasi sebagai bakteri dari genus *Bacillus*, bakteri tersebut telah dibuktikan efektif dapat mengendalikan beberapa patogen tanaman seperti layu fusarium pada anggrek (Djatinika 2012, Meena & Shamsheer 2014), busuk lunak yang disebabkan oleh *Pectobacterium carotoporum* dan *Pseudomonas viridiflava* pada anggrek (Hanudin *et al.* 2013), layu fusarium pada anyelir (Hanudin 2007), *Phytophthora capsici* pada tomat (Sharma *et al.* 2015) dan *Ralstonia solanacearum* pada kentang (Hanudin *et al.* 2012). *Bacillus* spp. dideteksi menghasilkan senyawa antibiotik seperti mikosubtilins, basilomisin, fengimisin, mikobasilin, mikoserein, dan xanthobasidin (Velho *et al.* 2011).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil identifikasi secara biokimia, bahwa bakteri B 26 dan B 37 diidentifikasi

sebagai *Bacillus* spp. Isolat *Bacillus* spp. B 26 atau B 37 kompatibel dengan media pembawa yang mengandung karbohidrat dan protein minimal (M1). Hal itu ditandai dengan total frekuensi keefektifannya sama dengan perlakuan kontrol positif, yaitu paling tinggi dan pada media itu mampu bertahan sampai dengan 7 bulan. Populasinya setelah 7 bulan disimpan yaitu 10^9 cfu/ml dari populasi awal 10^{12} cfu/ml. Perlakuan *Bacillus* spp. B 26 atau B 37 yang disuspensikan ke dalam media pembawa dari bahan alami yang mengandung karbohidrat dan protein minimal, diaplikasi 2 hari sebelum inokulasi *Fusarium*, dengan cara celup benih selama 1 jam, kemudian diikuti dengan cara *spraying* pada jaringan tanaman (akar, batang, dan daun) interval 7 hari ($B_2M_1W_2$), merupakan perlakuan yang efektif mengendalikan layu fusarium dengan intensitas serangan yang paling rendah (masing-masing 43,67% dan 42,20%) dan persentase penekanan yang paling besar (masing-masing 36,03% dan 38,19%).

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Hortikultura, dan Balai Penelitian Hias Tahun Anggaran 2012, yang membiayai penelitian ini. Penulis mengucapkan terima kasih juga kepada Sdr. Dede Surachman, Ridwan Daleni, Muhidin, Leli Qodarlah, Ade Sulaeman, EE Saefudin, Yane, M. Irman Firmansyah, Arlan Hernawan, Asep Samsudin, Muhammad Fauzi dan semua pihak yang telah membantu pelaksanaan dan pelaporan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ahmed, I, Islam, Mt, Chowdhury Mah & Kamruzzaman, Md 2015, 'Isolation and characterization of arsenic resistant soil bacteria and their effects on germination of rice under arsenic contamination', *Res. Agric. Livest. Fish.*, vol. 2, no. 2, pp. 229-7.
2. Alemu, F 2013, 'Isolation of *Pseudomonas fluorescens* species from rhizospheric soil of faba bean and assessment of their siderophores production', *International Journal of Advanced Research*, vol. 1, no. 8, pp. 203-10.
3. Aliah, NU, Sulistyowati, L & Muhibbudin, A 2015, 'Hubungan lapisan epidermis daun pisang terhadap serangan jamur (*Mycosphaerella musicola*) penyebab bercak daun sigatoka pada sepuluh kultivar pisang', *Jurnal Hama dan Penyakit Tanaman*, vol. 3, no. 1, hlm. 35-43.
4. Basuki & Suharyanto 2003, 'Persyaratan dan pengujian mutu produk biopestisida', Makalah lokakarya biopestisida, Direktorat Pupuk dan Pestisida, Departemen Pertanian, Jakarta, 30 oktober 2003.
5. Cowan & Steel's 1974, 'Manual for the identification of medical bacteria', second edition, Syndics of the Cambridge University Press London, pp. 238.
6. Djatnika, I, Nuryani, W, Hanudin & Silvia, E 2010, 'Seleksi bakteri antagonis yang efektif untuk mengendalikan penyakit tular media tanaman anggrek', *Laporan Hasil Penelitian. Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung TA 2009*, Tidak dipublikasikan, 10 hlm.
7. Djatnika, I, Nuryani, W, Hanudin & Silvia, E 2011, 'Kemangkusan formula jenis bakteri antagonis (hasil isolasi 2010) terhadap intensitas serangan penyakit busuk lunak (*Pectobacterium carotovorum* pv. *carotovorum*) pada anggrek *Phalaenopsis*', *Laporan Hasil Penelitian, Balai Penelitian Tanaman Hias Segunung TA 2011*, Tidak dipublikasikan. 11 hlm.
8. Djatnika, I 2012, 'Seleksi bakteri antagonis untuk mengendalikan layu fusarium pada tanaman *Phalaenopsis*', *J. Hort.*, vol. 22, no. 3, hlm. 276-84.
9. Duijff, BJ, Recobert, G, Baker, PA, Loper, JE & Lemanceau P 1999, 'Microbial antagonism at the root is involved in the suppression of fusarium wilt by the combination of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* Fo47 and *Pseudomonas putida* WCS358', *Phytopathol.*, vol. 89, pp.1073-9.
10. Hanudin 2007, 'Kemangkusan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas fluorescens* dalam formulasi cair untuk pengendalian *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* pada tanaman anyelir', *J. Hort.*, (Edisi Khusus), no. 1, hlm. 61-71.
11. Hanudin, Nuryani, W, Budiarto, K, Nawangsih, AA & Tjahjono, B 2011, 'Identification of soft rot bacterial disease on orchids collected from West Java and DKI Jakarta', *Journal of an International Society for Southeast Asian Agricultural Science* (in press).
12. Hanudin, Marwoto B, Hersanti & Muharam, A 2012, 'Kompatibilitas *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma harzianum* untuk mengendalikan *Ralstonia solanacearum* pada kentang', *J. Hort.*, vol. 22, no. 2, hlm.173-80.
13. Hanudin, Nawangsih, AA, Marwoto, B & Tjahjono, B 2013, 'Komposisi formula biobakterisida berbahan aktif rhizobakteri untuk pengendalian busuk lunak pada anggrek *Phalaenopsis*', *J. Hort.*, vol. 23, no. 3, hlm. 244-54.
14. Hsu, ST, Chen, CC, Liu, HY & Tzeng, KC 1994, 'Colonization of roots and control of bacterial wilt of tomato by *Pseudomonas fluorescens*', Hartman, GL & Hayward AC. (eds.), *Bacterial wilt, Proc. of an Inter. Conf. ACIAR Proc.*, no. 45, pp. 305-11.
15. Khaerati, K & Ihwan 2011, 'Uji efek antibakteri ekstrak etanol herba seledri (*Apium graveolens* Linn.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dan analisis KLT bioautografi', *Biocelbes*, vol. 5, no. 1, hlm. 13-21.
16. Leoff, C, Saile, E, Rauvolfova, J, Quinn, CP, Hoffmaster, AR, Zhong, W, Metha, AS, Boons, GJ, Carlson, RW & Kannenberg, EL 2009, 'Secondary cell wall polysaccharides of *Bacillus anthracis* are antigens that contain specific epitopes which cross-react with three pathogenic *Bacillus cereus* strains that caused severe disease, and other epitopes common to all the *Bacillus cereus* strains tested', *Clycobiology*, vol. 19, no. 6, pp. 665-73.
17. Markiewicz, Z & Popowska, M 2011, 'An update on some structural aspects of the mighty miniwall', *Polish Journal of Microbiology*, vol. 60, no 3. pp. 181-6.
18. Meena, KR & Shamsheer, SK 2014, 'Lipopeptides as the antifungal and antibacterial agents: Applications in food safety and therapeutics', *Hindawi Publishing Corporation BioMed Research International*, Vol. 9, pp. 1-10.
19. Nuryani, W, Hanudin, Silvia, E, Suhardi & Muhidin 2004, 'Pengendalian hayati penyakit layu *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* pada anyelir', *Prosiding Seminar Nasional Florikultura*, Bogor, 4-5 Agustus 2004.
20. Pedro, MA & Cava, F 2015, 'Structural constraints and dynamics of bacterial cell wall architecture', *Front. Microbiol.*, no. 6, pp. 449, doi: 10.3389/fmicb.2015.00449.
21. Price, T, Hanudin & Reza R 1999, 'Bacteriology, CAQ short course-practical requirements', Integrated Pest Management for Smallholder Estate Crops Project-Plant Quarantine Component, 72 p.
22. Pusat Perlindungan Varietas Tanaman dan Perizinan Pertanian 2011, *Formulir pendaftaran pestisida biologi Kementerian Pertanian Republik Indonesia*, <<http://www.promedia.co.id/ppvtp/statis-36-izinpendaftaranpestisida>>. 26/1/2012>.
23. Selim, ME & El-Gammal, NA 2015, 'Role of fusaric acid mycotoxin in pathogenesis process of tomato wilt disease caused by *Fusarium oxysporum*', *J. Bioprocess Biotech.*, vol. 5, no. 10, pp. 2-5.
24. Sharma, R, Chauhan, A & Shirkot, CK 2015, 'Characterization of plant growth promoting *Bacillus* strains and their potential as crop protectants against *Phytophthora capsici* in tomato', *Biological Agriculture & Horticulture*, vol. 31, pp. 230-44.
25. Shopyan 2010, 'Fermentasi, bahan kuliah pada Universitas Malang, diunduh 14 Mei 2011, <<http://community.um.ac.id/forum.um.id/index.php?topic=2504>>.
26. Velho, RV, Medina, LF, Segalin, J & Brandelli, A 2011, 'Production of lipopeptides among *Bacillus* strains showing growth inhibition of phytopathogenic fungi', *Folia Microbiol (Praha)*, vol. 56, no. 4, pp. 297-303.
27. Vollmer, W & Joachim, VH 2004, 'The architecture of the murein (Peptidoglycan) in gram-negative bacteria: Vertical scaffold or horizontal layer(s)', *J. Bacteriol.*, vol. 186, no. 18, pp. 5978-87.

28. Zaim, S, Belabid, L & Bellahcene, M 2013, 'Biocontrol of chickenpea *Fusarium* wilt by *Bacillus* spp. Rhizobacteria', *J. of Plant Protection Res.*, vol. 53, no. 2, pp. 177-83.
29. Zhang, M, Xu, JH, Liu, G, Yao, XF, Li, PF & Yang, XP 2015, 'Characterization of the watermelon seedling infection process by *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*', *Plant Pathol.*, vol. 65, no. 5, pp. 1076-84.