



**KEMAMPUAN ANTAGONISTIK BEBERAPA ISOLAT  
*Bacillus spp.* TERHADAP PATOGEN *Pyricularia oryzae*  
PENYEBAB PENYAKIT BLAS TANAMAN PADI (*Oryza sativa*  
L.) PADA BEBERAPA KONSENTRASI**

**Avatachia Berliana Setiawan<sup>1</sup>, Yenny Wuryandari<sup>1\*</sup>, Tri Mujoko<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur

\*Corresponding Author: [yennywuryandari@upnjatim.ac.id](mailto:yennywuryandari@upnjatim.ac.id)

**ABSTRACT**

Rice (*Oryza sativa* L.) is a staple food crop that plays a vital role in supporting national food security. One of the major constraints in rice cultivation is blast disease, caused by the fungal pathogen *Pyricularia oryzae*, which can significantly reduce crop productivity and lead to substantial economic losses. The conventional management of this disease relies heavily on chemical pesticides, which pose long-term risks to environmental and human health. Therefore, eco-friendly alternatives such as biological control agents are necessary, with *Bacillus spp.* being one promising candidate. This study aimed to evaluate the antagonistic activity of three *Bacillus spp.* isolates (Bcz-14, Bcz-20, and Bcz-30) against *P. oryzae* at two bacterial population densities ( $10^6$  CFU/mL and  $10^9$  CFU/mL) under in vitro conditions. The experiment was conducted at the Plant Health Laboratory, Faculty of Agriculture, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” East Java, from January to March 2025. Results of the antagonism assay demonstrated that all *Bacillus spp.* isolates inhibited the growth of *P. oryzae*, with the highest inhibition observed in treatments Bcz-14 and Bcz-30 at  $10^6$  CFU/mL, with inhibition rates of 24.29% and 23.35%, respectively. The observed inhibition mechanisms included competition and antibiosis. Microscopic observations revealed abnormal hyphal structures in *P. oryzae*, including lysis, swelling, and chlamydospore formation, in response to *Bacillus spp.* treatment.

Keyword: antagonism, *Bacillus spp.*, blast disease, in vitro, *Pyricularia oryzae*,

**ABSTRAK**

[ANTAGONISTIC POTENTIAL OF SEVERAL *Bacillus spp.* ISOLATES AGAINST *Pyricularia oryzae*, THE PATHOGEN CAUSING RICE BLAST DISEASE (*Oryza sativa* L.)], AT DIFFERENT CONCENTRATION LEVELS] Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan komoditas pangan utama yang berperan penting dalam mendukung ketahanan pangan nasional. Salah satu kendala utama dalam budidaya padi adalah penyakit blas yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia oryzae*, yang dapat menurunkan produktivitas secara signifikan dan menimbulkan kerugian ekonomi. Pengendalian penyakit ini umumnya menggunakan pestisida kimia yang berpotensi menimbulkan dampak negatif jangka panjang terhadap lingkungan dan kesehatan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengendalian hayati yang lebih ramah lingkungan, salah satunya dengan memanfaatkan bakteri *Bacillus spp.* Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antagonistik beberapa isolat *Bacillus spp.* (Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30) terhadap *P. oryzae* pada dua tingkat konsentrasi populasi ( $10^6$  CFU/mL dan  $10^9$  CFU/mL) secara in vitro. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kesehatan Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur pada Januari–Maret 2025. Hasil uji antagonisme menunjukkan bahwa semua isolat *Bacillus spp.* mampu menghambat pertumbuhan *P. oryzae*, dengan efektivitas tertinggi pada perlakuan Bcz-14 dan Bcz-30 dengan kerapatan  $10^6$  CFU/mL, masing-masing sebesar 24,29% dan 23,35%. Mekanisme penghambatan yang diamati meliputi kompetisi dan antibiosis. Pengamatan mikroskopis menunjukkan adanya hifa abnormal pada *P. oryzae*, seperti lisis, pembengkakan, dan pembentukan klamidospora, sebagai respons terhadap perlakuan *Bacillus spp.*

Kata kunci: antagonistik, *Bacillus spp.*, in vitro, penyakit blas, *Pyricularia oryzae*

## PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan komoditas pangan strategis yang berperan penting dalam ketahanan pangan nasional. Permintaan terhadap beras terus meningkat setiap tahunnya seiring dengan pertumbuhan jumlah penduduk di Indonesia. Namun demikian, produktivitas padi nasional masih menghadapi berbagai tantangan, salah satunya adalah serangan organisme pengganggu tanaman, terutama penyakit tanaman.

Salah satu penyakit utama yang berdampak signifikan terhadap penurunan hasil panen padi adalah penyakit blas, yang disebabkan oleh jamur *Pyricularia oryzae*. Penyakit ini mampu menyerang tanaman padi pada seluruh fase pertumbuhannya, mulai dari fase persemaian hingga pengisian gabah, dan menginfeksi berbagai organ seperti daun, buku, leher malai, dan bulir. Berdasarkan laporan Kuswinanti *et al.* (2023), penyakit blas menduduki peringkat keempat sebagai penyebab utama gagal panen di Indonesia, dengan rata-rata luas serangan mencapai 9.778 hektare per tahun selama dekade terakhir. Bahkan, intensitas serangannya dapat menyebabkan kehilangan hasil hingga 90% (Bushal, 2021).

Upaya pengendalian penyakit blas di lapangan selama ini masih bergantung pada penggunaan fungisida kimia, seperti blasticidi-S, IBP, dan carpropamid. Meskipun efektif dalam jangka pendek, penggunaan pestisida secara terus-menerus dapat menyebabkan resistensi patogen, pencemaran lingkungan, kematian mikroorganisme non-target, dan kerugian ekonomi bagi petani (Takagi *et al.*, 2004 ; Djojumatro, 2008). Oleh karena itu, diperlukan alternatif pengendalian penyakit yang lebih berkelanjutan dan ramah lingkungan, salah satunya melalui pemanfaatan agens hayati.

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) merupakan kelompok bakteri yang hidup di rizosfer dan berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman serta menghambat patogen. Salah satu genus PGPR yang telah banyak diteliti adalah *Bacillus* spp., yang dikenal mampu menghasilkan senyawa antifungal dan bersifat antagonis terhadap berbagai patogen tanaman. Beberapa penelitian sebelumnya telah membuktikan efektivitas *Bacillus* spp. dalam menghambat patogen seperti *Ralstonia solanacearum* dan *Fusarium oxysporum* pada tanaman cabai (Zinidin, 2022; Zakqy, 2023), serta *Phytophthora palmivora* pada kakao (Anjarsari *et al.*, 2022), dan *Sclerotium rolfsii* pada kedelai (Sofiani *et al.*, 2017).

Meskipun efektivitas *Bacillus* spp. terhadap beberapa patogen telah banyak dilaporkan, kajian mengenai aktivitas antagonistiknya terhadap *P. oryzae* sebagai penyebab penyakit blas pada padi masih terbatas. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi isolat *Bacillus*

*spp.* terhadap patogen tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi kemampuan antagonistik tiga isolat *Bacillus spp.* (Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30) terhadap pertumbuhan jamur *Pyricularia oryzae* secara *in vitro* pada dua tingkat konsentrasi populasi bakteri.

## METODE PENELITIAN

### *Eksplorasi dan Isolasi Pyricularia oryzae*

Eksplorasi *P. oryzae* dilakukan di daerah persawahan Kecamatan Karang Pilang untuk mencari tanaman padi yang terkena infeksi *P. oryzae* dengan menunjukkan gejala berupa adanya bercak lonjong di daun tanaman padi. Isolasi jamur patogen *P. oryzae* dari daun padi dilakukan menggunakan metode isolasi umum. Sampel daun padi yang bergejala blas dipotong kecil-kecil ( $\pm 1$  cm), kemudian direndam NaOCl 1% selama 1 menit. Potongan daun yang bergejala blas tersebut kemudian dibilas dengan aquades steril selama 1 menit dan ditiriskan pada tissue steril. Selanjutnya, 5-6 potongan sampel disusun pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Isolat jamur diinkubasi pada suhu 28 °C selama 3-7 hari. Setelah itu, jamur yang telah tumbuh dimurnikan dan diidentifikasi menggunakan mikroskop

### *Postulate Koch Pyricularia oryzae*

Uji Postulat Koch dilakukan untuk memastikan jamur patogen yang ditemukan sesuai dengan gejala serangan penyakit blas pada tanaman padi dari hasil isolasi awal. Tahapan inokulasi *P. oryzae* pada daun padi yaitu menyiapkan 3 potong sampel daun padi yang sehat untuk pertumbuhan patogen, lalu mensterilkan permukaan daun padi dengan cara mencuci dengan air mengalir, dibilas dengan alkohol 70%, kemudian dibilas kembali dengan akuades steril dan dikering-anginkan diatas tisu. Selanjutnya, daun padi steril diletakkan pada cawan petri yang dialasi kertas saring basah. Daun padi ditusuk dengan jarum steril sebanyak 4 tusukan dengan jarak 1 cm dari setiap titik tusukan, kemudian meneteskan suspensi *P. oryzae* pada lubang tusukan sebanyak 1 tetes dan menutupnya dengan tisu steril basah, diinkubasi selama 1 minggu. Suspensi *P. oryzae* yang digunakan dari biakan murni mengandung kerapatan spora  $10^5$  spora/ml yang mampu menimbulkan gejala penyakit blas (Hersanti *et al.*, 2020). Selama inkubasi juga dilakukan pengamatan untuk mengetahui pada hari keberapa gejala serangan penyakit blas yang sama dengan isolasi awal muncul. Setelah terlihat adanya gejala penyakit yang sama muncul, kemudian dilakukan reisolasi. Hasil reisolasi jamur patogen harus

memiliki morfologi yang sama dengan isolat awal (Dewi *et al.*, 2015).

*Peremajaan bakteri Bacillus spp. bcz14, bcz20, dan bcz30*

Peremajaan bakteri *Bacillus spp.* dilakukan secara aseptis dengan menggunakan metode *streak* pada media NA agar miring dalam tabung reaksi. Isolat bakteri diambil menggunakan jarum ose, kemudian digoreskan pada media NA miring yang baru. Selanjutnya, diinkubasi pada suhu ruang selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, biakan yang telah berumur 48 jam dipanen dengan menambahkan 10 mL aquades steril ke dalam tabung reaksi, lalu mengikis permukaan media NA yang ditumbuhi bakteri dengan jarum ose. Suspensi akan dihomogenkan menggunakan *vortex* untuk membuat konsentrasi kerapatan populasi bakteri.

*Pembuatan Suspensi Bacillus spp.*

Pembuatan suspensi *Bacillus spp.* diawali dengan menghitung kerapatan populasi *Bacillus spp.* yang akan digunakan sebagai perlakuan yaitu  $10^6$  CFU/mL dan  $10^9$  CFU/mL. Tahapan yang dilakukan yaitu membuat pengenceran bertingkat dari  $10^0$  hingga  $10^9$  terhadap suspensi *Bacillus spp.* hasil peremajaan. Sebanyak 10 mL aquades steril ditambahkan pada isolat *Bacillus spp.* yang telah berumur 48 jam, kemudian menggosok permukaan media isolat dengan jarum ose. Selanjutnya pada setiap tabung reaksi diberi aquades steril sebanyak 9 mL, dan mengambil suspensi *Bacillus spp.* pertama ( $10^0$ ) sebanyak 1 mL, dilakukan hingga pengenceran terakhir ( $10^9$ ). Setelah itu, mengambil 1 mL suspensi dari pengenceran terakhir dan meratakannya pada cawan petri berisi media NA, kemudian menghitung jumlah koloni bakteri setelah 24 jam. Perhitungan populasi bakteri dilakukan menggunakan metode TPC atau “*Total Plate Count*” yaitu dengan menghitung jumlah koloni yang layak dari cawan petri (Soesetyaningsih & Azizah, 2020). Jumlah koloni bakteri dihitung menggunakan rumus:

$$\sum \text{Koloni per cawan} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$$

*Uji Antagonis Bacillus spp. terhadap P. oryzae secara In vitro*

Uji antagonis dilakukan menggunakan metode kultur ganda (*dual culture*). Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasi terlebih dahulu koloni jamur *Pyricularia oryzae* pada media PDA. Ukuran

koloni jamur diambil sebesar 0,5 cm dengan *cork borer* lalu diletakkan pada bagian sisi kiri cawan petri. Setelah itu, kertas saring diameter 0,5 cm direndam pada suspensi bakteri  $10^6$  CFU/mL (konsentrasi 1) dan  $10^9$  CFU/L (konsentrasi 2) selama 30 menit. Selanjutnya kertas saring yang telah direndam suspensi bakteri, diletakkan pada bagian sisi kanan cawan petri. Jarak masing-masing antara jamur dan bakteri pada cawan petri adalah 3 cm. Perlakuan kontrol *P. oryzae* diinokulasi pada media PDA tanpa dipasangkan isolat *Bacillus spp.* (Flori *et al.*, 2020). Semua perlakuan dan kontrol kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari dan dilakukan pengamatan setiap hari.

*Variabel pengamatan*

*Daya hambat Bacillus spp.*

Perhitungan persentase penghambatan dilakukan dengan cara menghitung pertambahan diameter pertumbuhan miselia jamur selama 7 hari berturut-turut. Persentase penghambatan pertumbuhan miselia jamur dihitung dengan rumus menurut Hanif *et al.* (2012), yaitu:

$$DH : \frac{R1 - R2}{R1} 100 \%$$

Keterangan :

R1 : Jari jari yang menjauhi bakteri antagonis

R2 : Jari jari yang menjauhi bakteri antagonis

*Pengamatan morfologi P. oryzae pasca Uji antagonis*

Pengamatan morfologi *P. oryzae* dilakukan setelah pengujian antagonis untuk mengetahui mekanisme penghambatan dari pemberian bakteri antagonis terhadap jamur patogen. Pengamatan ini dilakukan secara mikroskopis dengan mengamati miselium jamur yang abnormal atau mengalami pembengkakan dan pemendekan miselium yang berakibat pertumbuhan miselium jamur tidak mampu berkembang dengan sempurna. Tahapan yang dilakukan yaitu mengambil miselium *Pyricularia oryzae* yang terletak dekat zona hambat bakteri antagonis dan diletakkan pada preparat yang ditetesi aquades, kemudian ditutup dengan cover glass dan diamati dengan mikroskop.

*Analisis data*

Analisis data pada penelitian ini menggunakan Anova dan apabila terdapat beda yang nyata antar perlakuan dilakukan pengujian lanjutan untuk uji *in vitro* dalam cawan petri menggunakan BNJ 5%.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### *Pengambilan sampel tanaman padi bergejala Blas*

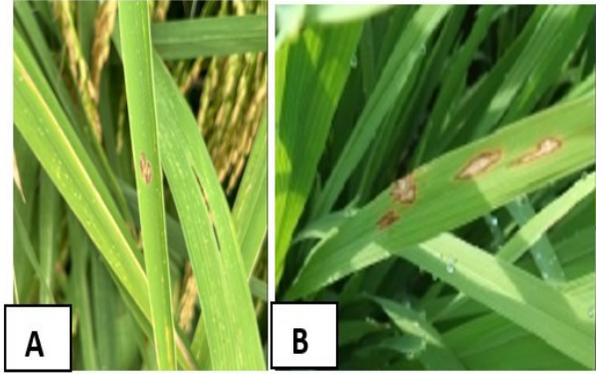
Eksplorasi dan isolasi *Pyricularia oryzae* dilakukan dengan mengambil sampel daun padi yang menunjukkan gejala khas penyakit blas, yang dikumpulkan dari lahan persawahan di Jalan Kemlaten Baru, Kecamatan Karang Pilang, Kota Surabaya (Gambar 1). Lokasi pengambilan sampel merupakan sawah irigasi di daerah dataran rendah dengan karakteristik lingkungan yang lembap dan bersuhu relatif rendah. Sistem pengairan yang digunakan adalah irigasi permukaan, yaitu air dialirkan langsung ke permukaan tanah sesuai kebutuhan tanaman dan kondisi lahan.

Kondisi lingkungan seperti suhu rendah dan kelembapan tinggi diketahui berkontribusi secara signifikan terhadap perkembangan penyakit blas, terutama di lahan sawah irigasi dengan curah hujan tinggi (Sudarma, 2013). Selain itu, tekanan air yang sedang serta kondisi kekurangan air turut memperbesar risiko serangan dan penyebaran sporulasi patogen.



Gambar 1. Kondisi lahan persawahan tanaman padi jalan Kemlaten Baru, Kec. Karang Pilang, Surabaya

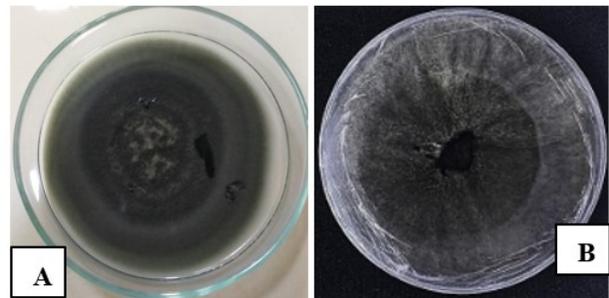
Daun padi yang diambil dari lahan menunjukkan gejala khas penyakit blas, yaitu adanya bercak berbentuk belah ketupat dengan ujung yang agak runcing. Bercak tersebut memiliki tepi berwarna coklat hingga coklat kemerahan, sedangkan bagian tengahnya berwarna putih keabu-abuan (Gambar 2). Gejala ini sesuai dengan deskripsi yang dikemukakan oleh Lestari *et al.* (2016), yang menyatakan bahwa infeksi *Pyricularia oryzae* ditandai dengan munculnya bercak berbentuk lonjong atau belah ketupat, dengan bagian tengah berwarna abu-abu keputihan dan tepi berwarna coklat hingga agak jingga. Sampel daun padi yang menunjukkan gejala tersebut selanjutnya diisolasi menggunakan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dan diinkubasi selama 7 hari.



Gambar 2. Sampel daun tanaman padi bergejala Blas (A) Sampel daun dokumen pribadi; (B) Sampel daun dari literatur (Lestari *et al.*, 2021)

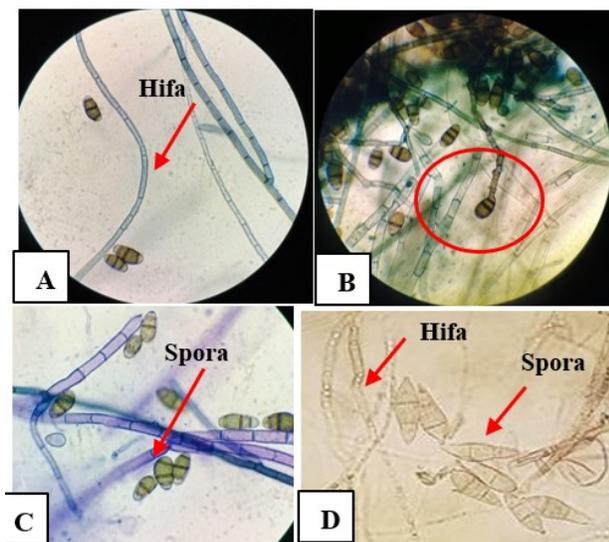
### *Isolasi jamur patogen Pyricularia oryzae*

Hasil isolasi dari sampel daun padi yang menunjukkan gejala penyakit blas berhasil memperoleh koloni jamur patogen *Pyricularia oryzae* setelah melalui tahap pemurnian. Koloni yang diperoleh selanjutnya diamati karakter morfologinya secara makroskopis dan mikroskopis. Berdasarkan pengamatan makroskopis, koloni *P. oryzae* memiliki morfologi berwarna hitam keabuan, berbentuk tipis, serta memiliki tekstur permukaan halus menyerupai kapas yang tumbuh memenuhi permukaan cawan petri (Gambar 3). Temuan ini sejalan dengan pernyataan Wicaksono *et al.* (2017) dalam Sandy *et al.* (2024), yang menyebutkan bahwa koloni *P. oryzae* pada media PDA berwarna hitam keabuan, tipis, tidak membentuk miselium udara, dan membentuk pola melingkar menyerupai cincin setelah tumbuh hampir memenuhi cawan petri. Hasil penelitian Astriawati *et al.* (2025) menunjukkan bahwa isolat *P. oryzae* dari tanaman padi di lahan sawah Desa Mulya Sari secara makroskopis menunjukkan warna hitam dengan tekstur permukaan halus menyerupai kapas.



Gambar 3. Bentuk Koloni *Pyricularia oryzae* secara Makroskopis (A) Koloni *P. oryzae* dokumen pribadi; (B) Koloni *P. oryzae* dari literatur (Sandy *et al.*, 2024)

Hasil pengamatan morfologi *Pyricularia oryzae* secara mikroskopis pada perbesaran  $100\times$  menunjukkan bahwa hifa jamur berbentuk ramping, bersekat (septat), serta spora berbentuk lonjong bersekat dan berwarna hitam. Selain itu, kotak spora terlihat menyerupai askus (Gambar 4). Temuan ini sejalan dengan hasil penelitian Astriawati *et al.* (2025) yang melaporkan bahwa secara mikroskopis, *P. oryzae* memiliki hifa bersekat dan ramping, spora berbentuk seperti buah pir (pyriform), serta kotak spora menyerupai askus. Penelitian Kuswinanti *et al.* (2023) juga mendukung temuan tersebut dengan menyatakan bahwa spora *P. oryzae* berbentuk pyriform dan memiliki dua hingga tiga sekat (septata).



Gambar 4. Pengamatan mikroskopis jamur *P. oryzae* (A) (C) hifa & spora ( $40\times$ ) dokumen pribadi; (B) kotak spora (sporangium) ( $100\times$ ); (D) hifa & spora ( $100\times$ ) dari literatur (Kuswinanti *et al.*, 2023)

#### Hasil Postulate Koch

Uji Postulat Koch dilakukan dengan menggunakan suspensi spora *Pyricularia oryzae* yang memiliki kepadatan sebesar  $6,57 \times 10^6$  spora/mL. Daun padi sehat disiapkan sebagai inang, kemudian dilakukan inokulasi dengan cara menyemprotkan suspensi tersebut secara merata ke permukaan daun. Setelah inokulasi, daun diinkubasi selama 7 hari di dalam cawan petri steril yang dilapisi tisu basah untuk menjaga kelembapan.

Hasil uji menunjukkan bahwa jamur *P. oryzae* terbukti bersifat patogen terhadap tanaman padi. Gejala awal infeksi mulai terlihat pada hari ke-3 setelah inokulasi, berupa bercak berwarna abu-abu di bagian tengah dengan tepi berwarna coklat (Gambar 5). Infeksi yang terus berkembang menyebabkan daun padi

menguning dan akhirnya mengering. Proses infeksi umumnya berlangsung selama 5 hingga 7 hari. Semakin cepat munculnya gejala setelah inokulasi, semakin tinggi pula tingkat infektivitas patogen.

Temuan ini sejalan dengan penelitian Suganda *et al.* (2016), yang menunjukkan bahwa *P. oryzae* menyebabkan bercak berbentuk lonjong pada daun padi, dengan periode inkubasi berkisar antara 5 hingga 10 hari, tergantung pada kondisi lingkungan dan varietas padi yang digunakan.



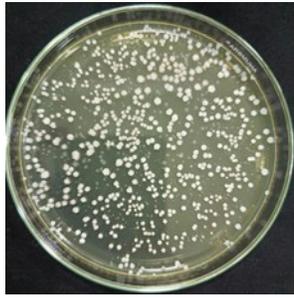
Gambar 5. Hasil gejala dari *Postulate Koch*

#### Hasil peremajaan bakteri antagonis *Bacillus* spp.

Isolat *Bacillus* spp. yang digunakan dalam penelitian ini merupakan koleksi hasil eksplorasi dari rizosfer tanaman cabai dan telah melalui proses isolasi serta uji pendahuluan yang menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* (Zinidin, 2022). Peremajaan isolat dilakukan dengan menginokulasikan isolat *Bacillus* spp. Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30 pada cawan petri yang berisi media Nutrient Agar (NA), kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang.

Hasil peremajaan menunjukkan bahwa ketiga isolat *Bacillus* spp. memiliki karakteristik morfologi koloni berwarna putih, tepi koloni tidak rata, dan permukaan koloni tidak berlendir (Gambar 6). Morfologi ini konsisten dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Zinidin (2022).

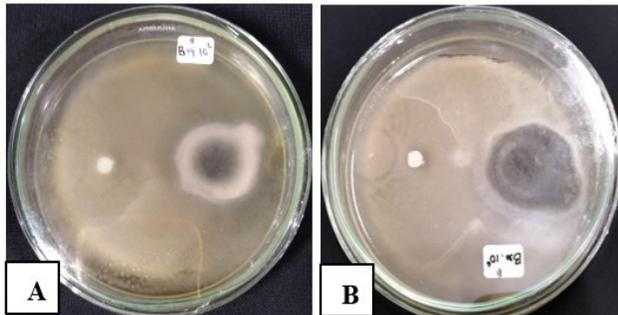
Ketiga isolat *Bacillus* spp. tersebut digunakan sebagai agen hayati dalam uji antagonis terhadap jamur patogen *Pyricularia oryzae*. Pengujian dilakukan dengan metode kultur ganda (*dual culture*), di mana masing-masing isolat *Bacillus* spp. dibuat dalam bentuk suspensi dengan dua tingkat konsentrasi kepadatan populasi, yaitu  $10^6$  CFU/mL (konsentrasi 1) dan  $10^9$  CFU/mL (konsentrasi 2). Selanjutnya dilakukan pengamatan untuk mengevaluasi efektivitas masing-masing isolat dan konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan hifa *P. oryzae*.



Gambar 6. Koloni bakteri *Bacillus* spp. isolat Bcz-30 dalam media NA

Hasil uji antagonis *P. oryzae* dengan isolat Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30

Uji antagonis *P. oryzae* terhadap *Bacillus* spp. isolat Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30 dilakukan menggunakan metode kultur ganda (*dual culture*) (Gambar 7) pada media PDA. Pengamatan dilakukan selama 7 hari dengan mengukur diameter pertumbuhan *P. oryzae*. Koleksi ketiga isolat *Bacillus* spp. yang digunakan telah terbukti mampu menekan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* secara *In vitro*. Hal tersebut dikarenakan adanya senyawa anti bakteri yang dapat bersifat bakteriostatik dan bakterisida (Zinidin, 2022).



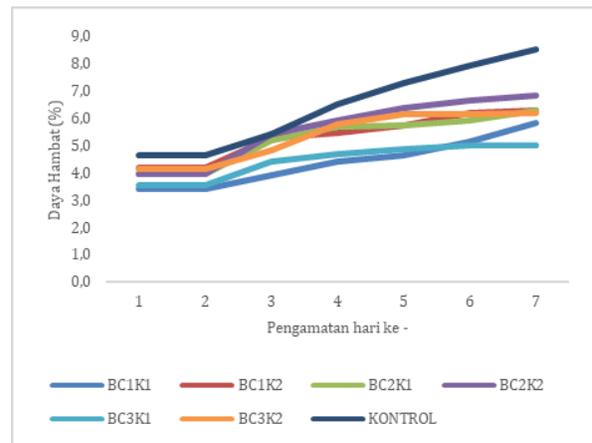
Gambar 7. Hasil uji antagonis bakteri *Bacillus* spp. terhadap jamur patogen *P. oryzae* (A) Bc1K1; (B) Bc3K1

Hasil uji antagonis secara *in vitro* menunjukkan bahwa seluruh perlakuan menggunakan isolat *Bacillus* spp. mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen *Pyricularia oryzae* (Gambar 8), dengan efektivitas penghambatan yang diamati mulai minggu ke-2 hingga minggu ke-7 setelah inokulasi. Berdasarkan pengamatan visual, pertumbuhan isolat *Bacillus* spp. Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30 lebih cepat dibandingkan dengan pertumbuhan *P. oryzae*. Ketiga isolat bakteri menunjukkan kemampuan pertumbuhan yang sangat pesat, di mana pada hari ke-5 koloni bakteri telah memenuhi seluruh permukaan cawan petri.

Temuan ini didukung oleh penelitian Nabila & Asri (2021) yang menunjukkan bahwa *Bacillus subtilis* mampu tumbuh secara optimal dalam media

*Nutrient Agar* (NA) dalam waktu dua hari. Namun, laju pertumbuhan ini tetap dipengaruhi oleh kondisi lingkungan dan ketersediaan sumber nutrisi. Selain melalui mekanisme kompetisi nutrisi, diduga mekanisme antibiosis juga berperan dalam penghambatan pertumbuhan *P. oryzae*. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat di sekitar koloni bakteri (Gambar 7), yang mengindikasikan adanya aktivitas antagonistik terhadap jamur patogen.

Zona hambat yang terbentuk di sekitar koloni bakteri antagonis disebabkan oleh produksi senyawa antimikroba sebagai respons pertahanan (Syofiana & Masnilah, 2019). Senyawa antimikroba ini merupakan hasil metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antifungi terhadap patogen, termasuk *P. oryzae*.



Gambar 8. Laju daya hambat *P. oryzae* selama 7 hari pengamatan

Keterangan : BC1K1 : bcz14 +  $10^6$  CFU/mL ; BC1K2 : bcz14 +  $10^9$  CFU/mL ; BC2K1 : bcz20 +  $10^6$  CFU/mL ; BC2K2 : bcz20 +  $10^9$  CFU/mL ; BC3K1 : bcz30 +  $10^6$  CFU/mL ; BC3K2 : bcz30 +  $10^9$  CFU/mL)

Laju pertumbuhan *Pyricularia oryzae* yang ditampilkan pada Gambar 8 menunjukkan bahwa pada perlakuan kontrol, pertumbuhan koloni jamur berlangsung cepat sejak hari ke-3, dan terus meningkat hingga memenuhi seluruh diameter cawan petri (9 cm) pada hari ke-7. Sebaliknya, isolat *P. oryzae* yang diberi perlakuan dengan isolat *Bacillus* spp. menunjukkan pertumbuhan yang terhambat mulai hari ke-3. Penghambatan ini diduga disebabkan oleh kemampuan isolat *Bacillus* spp. Bcz-14, Bcz-20, dan Bcz-30 dalam menghasilkan senyawa antifungal.

*Bacillus subtilis* mampu menghasilkan berbagai senyawa antifungal seperti iturin A, mycobacillin, surfactin, mycosubtilin, dan fungistatin (Rochmawati & Trimulyono, 2020) Sementara itu, *Bacillus megaterium* menghasilkan senyawa yang serupa, namun juga mengandung tambahan enzim seperti endoproteinase, fosfolipase A, glukonase, dan kitinase yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan patogen.

Berdasarkan hasil sidik ragam, diketahui bahwa perlakuan tingkat kerapatan populasi menunjukkan perbedaan yang nyata terhadap laju pertumbuhan *P. oryzae* selama periode pengamatan 7 hari. Namun, tidak terdapat perbedaan yang signifikan pada perlakuan isolat bakteri maupun interaksi antara isolat bakteri dan tingkat kerapatan populasi.

Perlakuan Bcz-14 dengan kerapatan  $10^6$  CFU/mL (Bc1K1) memberikan daya hambat yang konsisten meningkat dari hari ke-1 hingga hari ke-5, namun mengalami penurunan pada hari ke-6 dan ke-7 (Tabel 1). Penurunan daya hambat ini kemungkinan disebabkan oleh masuknya bakteri ke dalam fase

sebesar 33,33%, 36,97%, dan 41,18%, sedangkan pada perlakuan Bc3K2 sebesar 15,53%, 22,27%, dan 27,06%. Fenomena ini diduga berkaitan dengan ketersediaan nutrisi yang mendukung pertumbuhan bakteri sehingga menghasilkan senyawa antijamur dalam jumlah yang lebih besar.

Secara keseluruhan, hasil penelitian menunjukkan bahwa kedua isolat bakteri *Bacillus* spp. yang digunakan memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan *P. oryzae*. Khan *et al.* (2018) melaporkan bahwa *Bacillus subtilis*, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, dan *Bacillus megaterium* merupakan spesies dari genus *Bacillus* yang umum

Tabel 1. Daya hambat *Bacillus* spp. selama 7 hari

Perlakuan	Pengamatan pada hari ke - (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
BC1K1	10,81 a	26,62 a	28,22 a	32,31 a	36,53 a	35,29 a	31,37 a
BC1K2	9,46 a	9,35 b	2,45 b	15,90 a	21,46 a	21,85 a	26,27 b
BC2K1	10,81 a	14,39 a	4,29 b	12,82 b	21,46 a	25,21 a	25,88 b
BC2K2	9,46 a	14,39 a	0,61 b	9,23 b	12,79 b	15,97 b	19,61 b
BC3K1	9,46 a	23,02 a	19,02 a	28,21 a	33,33 a	36,97 a	41,18 a
BC3K2	6,76 a	10,79 b	11,04 a	11,28 b	15,53 b	22,27 a	27,06 a
BNJ 5%	0,2	0,6	1	1,2	1,3	1,2	1,2

Keterangan : angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan tidak ada perbedaan yang nyata antar perlakuan pada BNJ 5%; Bc1K1 = Bcz-14 + 106 CFU/mL, Bc1K2 = Bcz-14 + 109 CFU/mL, Bc2K1 = Bcz-20 + 106 CFU/mL, Bc2K2 = Bcz-20 + 109 CFU/mL, Bc3K1 = Bcz-30 + 106 CFU/mL, Bc3K2 = Bcz-30 + 109 CFU/mL

penurunan pertumbuhan (*decline phase*). *Decline phase* merupakan tahap saat jumlah koloni bakteri menurun akibat kondisi lingkungan yang tidak mendukung, seperti terbatasnya nutrisi serta akumulasi produk metabolit yang bersifat toksik bagi bakteri itu sendiri, termasuk *Bacillus* spp. (Gunawan, 2017).

Penurunan daya hambat diamati pada perlakuan Bc1K2, Bc2K1, Bc2K2, dan Bc3K1. Meskipun demikian, perlakuan-perlakuan tersebut tetap menunjukkan kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Pyricularia oryzae*. Hal ini diduga disebabkan oleh masih adanya senyawa antijamur yang dihasilkan oleh bakteri, meskipun jumlah koloni bakteri mengalami penurunan, sehingga senyawa tersebut tetap aktif di dalam media kultur.

Variasi tingkat daya hambat yang dihasilkan antarperlakuan disebabkan oleh perbedaan isolat bakteri serta kerapatan populasinya. Daya hambat tertinggi diperoleh dari tiga perlakuan, yaitu Bc3K1 (isolat Bcz-30 dengan kerapatan  $10^6$  CFU/mL), Bc1K1 (isolat Bcz-14 dengan kerapatan  $10^6$  CFU/mL), dan Bc3K2 (isolat Bcz-30 dengan kerapatan  $10^9$  CFU/mL). Perlakuan Bc1K1 menunjukkan daya hambat tertinggi pada hari ke-5, yaitu sebesar 36,53%. Sementara itu, perlakuan Bc3K1 dan Bc3K2 menunjukkan tren peningkatan daya hambat dari hari ke-5 hingga hari ke-7. Adapun peningkatan daya hambat pada perlakuan Bc3K1 masing-masing

digunakan karena kemampuannya dalam menghasilkan senyawa antijamur dan antibakteri serta berperan sebagai *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB). Selain itu, *Bacillus* spp. yang berperan sebagai PGPB juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman. Setiaji *et al.* (2023) menyatakan bahwa beberapa spesies *Bacillus* mampu menghasilkan elisitor yang dapat menginduksi mekanisme ketahanan tanaman. Penelitian Elfina *et al.* (2024) menunjukkan bahwa *Bacillus velezensis* dapat menginduksi ketahanan tanaman kakao terhadap penyakit busuk buah yang disebabkan oleh *Phytophthora palmivora*, melalui produksi senyawa anti jamur berupa Fengycin.

#### Hasil mekanisme kerja *Bacillus* spp. terhadap *Pyricularia oryzae*

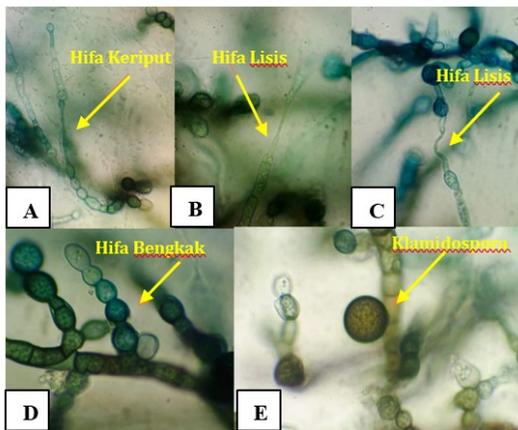
Uji mekanisme kerja *Bacillus* spp. dilakukan untuk mengetahui bentuk interaksi antara agensia hayati dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen. Hasil pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa semua perlakuan yang diuji memiliki sifat antagonistik terhadap *Pyricularia oryzae*, ditandai dengan kemampuan menghambat pertumbuhan dan perkembangan hifa patogen.

Mekanisme kompetisi dan antibiosis mulai terlihat pada hari ke-3 pengamatan, khususnya pada perlakuan dengan isolat Bc3K1, Bc1K1, dan Bc3K2. Mekanisme kompetisi ditunjukkan dengan pertum-

bahan koloni *Bacillus* spp. yang lebih cepat dan dominan memenuhi permukaan media pada cawan petri. Mekanisme kompetisi dapat diamati ketika koloni bakteri antagonis menutupi koloni patogen, serta terjadi percepatan pertumbuhan bakteri untuk mendominasi media. Pada area kontak antara koloni bakteri dan patogen, hifa patogen terlihat mengalami lisis, menandakan adanya penghambatan langsung.

Selain itu, mekanisme antibiosis juga teridentifikasi pada perlakuan yang diuji. Mekanisme ini ditandai dengan terbentuknya zona hambat di antara koloni *Bacillus* spp. dan koloni jamur patogen *P. oryzae*. Keberadaan zona hambat tersebut mengindikasikan bahwa *Bacillus* spp. menghasilkan senyawa antijamur yang mampu menghambat pertumbuhan patogen. Masyitah *et al.* (2023) menyatakan bahwa isolat bakteri dari genus *Bacillus* dikenal mampu memproduksi metabolit sekunder berupa antibiotik yang bersifat toksik, sehingga dapat berperan sebagai senyawa fungistatik (menghambat pertumbuhan jamur) atau fungisida (membunuh jamur patogen).

Pengamatan morfologi *P. oryzae* secara mikroskopis dilakukan untuk mengidentifikasi adanya perubahan struktural pada hifa akibat paparan senyawa antijamur dari *Bacillus* spp. Hasil pengamatan menunjukkan adanya perubahan morfologi hifa berupa hifa yang mengalami lisis, pembengkakan, serta terbentuknya klamidospora. Temuan ini mengindikasikan adanya stres fisiologis pada hifa jamur. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Hanif *et al.* (2012), yang menunjukkan bahwa hifa abnormal merupakan hifa yang tidak berkembang secara sempurna akibat adanya senyawa toksik yang merusak struktur dinding sel hifa.



Gambar 9. Pengamatan mikroskopis hifa abnormal *P.oryzae* (100x) (A) hifa keriput; (B) hifa lisis; (C) hifa lisis; (D) hifa bengkak; (E) klamidospora

Perubahan morfologi yang ditandai dengan terbentuknya hifa abnormal pada jamur patogen diduga merupakan akibat dari aktivitas senyawa antifungal yang dihasilkan oleh isolat *Bacillus* spp. Hifa abnormal tersebut menunjukkan gejala pembengkakan dan pemendekan, yang secara signifikan menghambat proses pertumbuhan hifa secara optimal. Variasi tingkat kerusakan morfologi hifa yang diamati kemungkinan besar berkaitan dengan perbedaan kapasitas masing-masing isolat *Bacillus* spp. dalam mensintesis dan mensekresikan senyawa metabolit sekunder yang bersifat antimikroba.

Bentuk hifa abnormal yang diinduksi oleh senyawa antifungal meliputi hifa yang mengalami lisis, keriput, patah, pembengkakan, maupun pembengkakan (Novina & Suryanto, 2013). Kondisi tersebut terjadi sebagai akibat dari kemampuan senyawa antifungal yang diproduksi oleh *Bacillus* spp. dalam mendegradasi dinding sel hifa, sehingga menyebabkan gangguan integritas sel dan menghambat pertumbuhan *Pyricularia oryzae*.

Selain perubahan morfologi hifa, pengamatan mikroskopis juga memperlihatkan adanya pembentukan struktur klamidospora pada isolat *P. oryzae* (Gambar 9E). Klamidospora tersebut berbentuk bulat sempurna, berdinding tebal, dan berwarna gelap. Klamidospora merupakan struktur kelangsungan hidup yang terbentuk sebagai respons terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan. Wahyuni (2019) menyatakan bahwa klamidospora merupakan bentuk adaptasi fisiologis jamur yang ditandai oleh penebalan dinding sel dan terbentuk dari ujung hifa yang mengalami pembulatan atau pembengkakan. Lebih lanjut, Klamidospora mengandung spora serta cadangan nutrisi, seperti glikogen, yang memungkinkan jamur bertahan hidup hingga lingkungan kembali mendukung pertumbuhan (Hidayati *et al.*, 2015).

## KESIMPULAN

Seluruh isolat *Bacillus* spp. yang diuji terbukti memiliki kemampuan antagonistik dalam menghambat pertumbuhan *Pyricularia oryzae* secara *in vitro*. Isolat Bcz-14 dan Bcz-30 menunjukkan efektivitas tertinggi pada kerapatan  $10^6$  CFU/mL. Mekanisme penghambatan yang teridentifikasi meliputi kompetisi dan antibiosis. Hasil ini mengindikasikan potensi *Bacillus* spp. sebagai agens hayati dalam pengendalian penyakit blas pada tanaman padi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Astriawati, F. & Anfa, Q. (2025). Isolasi dan karakterisasi fungi *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas pada tanaman padi. *Biospecies*, 18(1), 16–24. DOI: <https://doi.org/10.22437/biospecies.v18i1.38524>.

- Bushal, K., & Neupane, N. (2021). A review of blast disease of rice in Nepal. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 12, 1–5. DOI: <https://doi.org/10.35248/2157-7471.20.12.528>
- Djojsumatro, P. (2008). *Pestisida dan aplikasinya*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Elfina, Y., Sabirunah, A., Wijayanto, D., Rizqi, A. & Mu'arif, M. (2024). The morphological identification of fungi causing cocoa fruit rot disease and inhibition test of *Bacillus spp.* against the fungus *in vitro*. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 20 (1), 83–89. DOI: <https://doi.org/10.30598/jbdp/2024.20.1.83>.
- Hanif, A., Suryanto, D. & Nurwahyuni, I. (2012). Pemanfaatan bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan *Curvularia sp.* penyebab penyakit bercak daun pada tanaman mentimun. *Saintia Biologi*, 1(1), 26–32.
- Hersanti, Safitri, N., Djaya, L. & Sianipar, M. S. (2020). Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* dalam campuran serat karbon dan silika nano untuk meningkatkan ketahanan tanaman padi terhadap penyakit blas (*Pyricularia oryzae*). *Agrikultura*, 31(3), 182. DOI: <https://doi.org/10.24198/agrikultura.v31i3.29483>.
- Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., ... & Hirsch, A. M. (2018). Antifungal activity of *Bacillus* species against *Fusarium* and analysis of the potential mechanisms used in biocontrol. *Frontiers in Microbiology*, 9, 2363. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02363>.
- Kuswinanti, T., Patandjengi, B. & Amin, N. (2023). *Pyricularia oryzae*: Races distribution and screening of fungal antagonists *in vitro*. *Pakistan Journal of Phytopathology*, 35(1), 55–65. DOI: <https://doi.org/10.33866/phytopathol.035.01.0848>.
- Leiwakabessy, C., Inayatri, F., Jambormias, E., Patty, J. & Ririhena, R. E. (2020). Ketahanan enam varietas padi terhadap penyakit blas (*Pyricularia oryzae* Cav.) pada lahan sawah irigasi dan sawah tadah hujan. *Jurnal Budidaya Pertanian*, 16(2), 147–156. DOI: <https://doi.org/10.30598/jbdp.2020.16.2.147>.
- Lestari, S. A., Ramdan, E. P., Kulsum, U., Risnawati & Pribadi, E. M. (2021). Identifikasi penyebab penyakit blas padi pada kombinasi pola tanam System of Rice Intensification (SRI) dan jajar legowo. *Agropross*, National Conference Proceedings of Agriculture, Politeknik Negeri Jember. DOI: [10.25047/agropross.2021.235](https://doi.org/10.25047/agropross.2021.235).
- Masyitah, N., Chamzurni, T. & Oktarina, H. (2023). Uji kompatibilitas kombinasi *Bacillus thuringiensis* dan *Pseudomonas aeruginosa* untuk mengendalikan *Fusarium oxysporum* pada pembibitan melon (*Cucumis melo* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pertanian*, 8(1), 466–482.
- Nabila, F. & Asri, M. T. (2021). Keefektifan *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium* dan kombinasi *Bacillus* terhadap penghambatan pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro*. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 10 (2), 220–225. DOI: <https://doi.org/10.26740/lenterabio.v10n2.p220-225>.
- Novina, D. & Suryanto, D. (2013). Uji potensi bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia solani* penyebab rebah kecambah pada kentang varietas Granola. *Saintia Biologi*, 1(1), 26–32.
- Rochmawati, Z. N. & Trimulyono, G. (2020). Uji antagonis *Bacillus subtilis* dan *Bacillus megaterium* terhadap pertumbuhan *Cercospora sp.* yang diisolasi dari *Nepenthes sp.* *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 9(3), 204–210.
- Sandy, Y. A., Dewi, F. S. & Li'aini, A. S. (2024). Isolasi, identifikasi dan karakterisasi jamur *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas pada tanaman padi di Kediri, Jawa Timur. *Journal of Applied Agricultural Sciences*, 8 (2), 167–174. DOI: <https://doi.org/10.25047/agriprima.v8i2.669>.
- Setiaji, A., Annisa, R. R. R. & Rahmandhias, D. T. (2023). Bakteri *Bacillus* sebagai agen kontrol hayati dan biostimulan tanaman. *Rekayasa*, 16 (1), 96–106. DOI: <https://doi.org/10.21107/rekayasa.v16i1.17207>.
- Sofiani, M., Djauhari, S. & Aini, L. Q. (2017). Pengaruh aplikasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dalam menghambat penyakit rebah kecambah yang disebabkan oleh jamur *Sclerotium rolfsii* pada kedelai. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 4(1), 32–38.
- Suganda, T., Yulia, E., Widiyanti, F. & Hersanti, H. (2016). Intensitas penyakit blas (*Pyricularia oryzae* Cav.) pada padi varietas Ciherang di lokasi endemik dan pengaruhnya terhadap kehilangan hasil. *Agrikultura*, 27(3).
- Syofiana, R. V. T. & Masnilah, R. (2019). Eksplorasi *Bacillus spp.* pada beberapa patogen rizosfer gulma dan potensinya sebagai agens pengendali hayati patogen tanaman secara *in vitro*. *Jurnal Bionindustri*, 2(1), 344–363.
- Takagi, M., Kaku, K., Watanabe, S., Kawai, K., Shimizu, T., Sawada, H., Kumakura, K. & Nagayama, K. (2004). Mechanism of resistance to carpropamid in *Magnaporthe grisea*. *Pest Management Science*, 60, 921–926. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.897>
- Wahyuni, S. (2019). Isolasi dan karakterisasi *Actino-*

- mycetes* dari beberapa sentra perkebunan bawang antagonis *Fusarium oxysporum* f. sp *cepae* dan perkecambahan tanaman bawang merah (*Allium ascalonicum* L.) varietas Tuk-tuk [Disertasi, Universitas Negeri Makassar].
- Wicaksono, D., Arif, W., & Ani, W. (2017). Metode isolasi *Pyricularia oryzae* penyebab penyakit blas padi. *Jurnal Hama dan Penyakit Tropika*, 17(1), 62–69.
- Zakqy, N. (2023). Potensi agensi hayati *Bacillus spp.* dalam menghambat penyakit layu *Fusarium* serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan dan produksi cabai rawit (*Capsicum frutescens* L.) [Skripsi, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur].
- Zinidin, M. (2022). Eksplorasi *Bacillus spp.* pada rizosfer cabai merah (*Capsicum annuum* L.) dataran tinggi dan potensinya sebagai agensia pengendalian hayati patogen *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro* [Skripsi, Universitas Pembangunan Nasional “Veteran” Jawa Timur].