

PROSPEK *Bacillus subtilis* SEBAGAI AGEN PENGENDALI HAYATI PATOGEN TULAR TANAH PADA TANAMAN JAGUNG

Prospect of Bacillus subtilis as a Biological Control Agent of Soilborne Pathogens on Maize

Suriani dan Amran Muis

Balai Penelitian Tanaman Serealia

Jalan Dr. Ratulangi No. 274 Kotak Pos 173 Maros 90514, Indonesia

Telp. (0411) 371529, Faks. (0411) 371961

E-mail: surianipalla@gmail.com, balitsereal@litbang.pertanian.go.id

Diterima: 6 Agustus 2015; Direvisi: 15 Januari 2016; Disetujui: 27 Januari 2016

ABSTRAK

Patogen tular tanah seperti *Rhizoctonia solani* dan *Fusarium* spp. dapat menyebabkan penyakit pada tanaman jagung. Kedua patogen tersebut dapat menimbulkan kerugian ekonomis antara 20–100%. Untuk menekan perkembangan patogen tersebut dapat diterapkan pengendalian yang ramah lingkungan, antara lain dengan memanfaatkan mikroba antagonis yang dapat mengkoloni daerah perakaran tanaman. *Bacillus subtilis* merupakan salah satu bakteri antagonis yang banyak digunakan dalam pengendalian patogen tular tanah. Efektivitas *B. subtilis* dalam pengendalian patogen tular tanah pada tanaman jagung telah dibuktikan oleh beberapa peneliti. *B. subtilis* CEI mampu menghambat perkembangan *F. verticillioides* hingga 98,5% pada level rhizoplane dan 99,86% pada endorhizosfer jagung. *B. subtilis* juga mampu menekan perkembangan *F. solani* hingga 82,1%. Oleh karena itu, *B. subtilis* berpotensi dikembangkan secara komersial sebagai biopestisida. Formulasi biopestisida berbahan aktif *B. subtilis* telah dikembangkan secara komersial khusus untuk mengendalikan patogen tular tanah.

Kata kunci: Jagung, *Bacillus subtilis*, pengendalian penyakit, patogen tular tanah

ABSTRACT

Soil borne pathogens such as *Rhizoctonia solani* and *Fusarium* spp. cause disease on maize. Both pathogens can induce high economic losses ranging from 20 to 100%. Therefore, the disease needs to be controlled through environmentally friendly control technique such as use of microbial antagonists that can colonize the root zone. *Bacillus subtilis* is one of the antagonistic bacteria widely used to control soil-borne pathogens. Effectiveness of *B. subtilis* in controlling soil borne pathogens on maize has been demonstrated by several researchers. *B. subtilis* CEI was able to inhibit the development of *F. verticillioides* by 98.5% in rhizoplane level and 99.86% at endorhizosper of maize. *B. subtilis* was also able to suppress the development of *F. solani* by 82.1%. Therefore, *B. subtilis* is potential to be commercially developed as biopesticide. Commercial products of biopesticide containing *B. subtilis* has been available to control soil-borne pathogens.

Keywords: Maize, *Bacillus subtilis*, biocontrol, soil borne pathogens

PENDAHULUAN

Hama dan penyakit merupakan kendala utama dalam budi daya tanaman. Patogen penyebab penyakit menginfeksi tanaman melalui berbagai perantara, yakni angin, udara, air, tanah, dan serangga. Sebagian patogen yang menginfeksi tanaman merupakan patogen tular tanah yang mampu hidup, menyebar, dan bertahan dalam jangka waktu lama di dalam tanah (Soesanto *et al.* 2011). Ciri utama patogen tular tanah ialah mempunyai daya pemencaran yang terbatas dari satu lokasi ke lokasi lain, namun beberapa patogen tular tanah dapat menghasilkan spora udara sehingga mudah memencar ke area yang lebih luas (Nurul dan Djajadi 2009).

Beberapa patogen tular tanah yang sering dijumpai dan menyebabkan kehilangan hasil pada tanaman jagung adalah *Rhizoctonia solani* dan *Fusarium* spp. Wakman *et al.* (1998) dalam Talanca (2007) melaporkan bahwa *Fusarium* spp. yang menyerang pertanaman jagung di Bontobili dan Bajeng, Sulawesi Selatan menyebabkan kerusakan masing-masing 20% dan 65%. Sementara itu, *R. solani* dapat mengakibatkan kehilangan hasil hingga 100%. *R. solani* menginfeksi pelepah bagian bawah dan selanjutnya menjalar ke tongkol sehingga menyebabkan kerugian hasil yang cukup tinggi (Soenartiningih 2013).

Pengendalian penyakit tanaman jagung umumnya masih menggunakan pestisida. Namun, penggunaan pestisida yang kurang bijaksana dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan maupun makhluk hidup. Pemanfaatan mikroba antagonis yang hidup di sekitar akar tanaman seperti *Bacillus* spp., *Pseudomonas* sp., *Gliocladium* sp., dan *Trichoderma* spp. merupakan salah satu cara pengendalian patogen tular tanah yang ramah lingkungan. Mikroba antagonis secara langsung atau tidak langsung dapat mengontrol perkembangan patogen tular tanah (Soenartiningih *et al.* 2011). *B. subtilis* menghambat perkembangan patogen melalui mekanisme persaingan, antibiosis, dan pemacuan pertumbuhan. Zongzheng *et al.* (2009) menyatakan bahwa *B. subtilis*

dapat menghambat reproduksi cendawan patogen melalui efek persaingan dan antibiotik. Keefektifan *B. subtilis* dapat menghambat reproduksi cendawan patogen dalam mengendalikan penyakit pada berbagai tanaman menunjukkan hasil yang cukup signifikan, seperti penyakit busuk buah kakao yang disebabkan oleh cendawan *Phytophthora palmivora* (Suriani *et al.* 2014), *R. solani*, *Colletotrichum panacicola*, dan *Pseudomonas syringae* (Bais *et al.* 2004; Muis *et al.* 2014; Ryu *et al.* 2014).

Dalam beberapa tahun terakhir, formulasi *B. subtilis* telah diproduksi secara komersial dan dimanfaatkan dalam skala luas. Formulasi *B. subtilis* dan *B. licheniformis* telah digunakan untuk mengendalikan nematoda pada tanaman kentang dan wortel di Brasil. Pada tahun 2008 sebanyak 12 ton produk ini telah dikomersialkan untuk perlindungan pertanaman kentang dan wortel dengan dosis penggunaan berkisar antara 5–10 kg/ha dan biaya USD160–300/ha. Produk lain telah dimanfaatkan secara luas untuk mengendalikan penyakit antraknosa pada tanaman kacang-kacangan dan karat daun kedelai di beberapa negara di Asia (Cawoy *et al.* 2011).

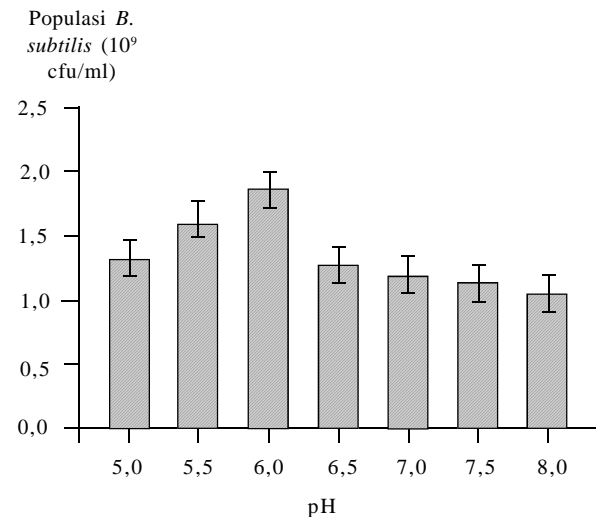
Tulisan ini membahas hasil-hasil penelitian potensi *B. subtilis* sebagai agen hayati patogen tular tanah dan pemanfaatannya di beberapa negara. Informasi tersebut diharapkan bermanfaat dalam pengendalian patogen tular tanah yang ramah lingkungan pada tanaman jagung.

BIOEKOLOGI *Bacillus subtilis*

B. subtilis merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, bersel satu, berukuran 0,5–2,5 μm x 1,2–10 μm , bereaksi katalase positif, bersifat aerob atau anaerob fakultatif, dan heterotrof. *B. subtilis* memiliki fisiologi yang berbeda dari bakteri lain yang bukan patogen, yakni relatif mudah dimanipulasi secara genetik dan mudah pula dibiakkan sehingga dapat dikembangkan pada skala industri (Soesanto 2008).

Bakteri antagonis ini dapat bertahan pada kondisi lingkungan tertentu, yakni pada suhu -5 sampai 75°C dengan tingkat keasaman (pH) antara 2–8. Muis (2006) menemukan populasi *B. subtilis* yang ditumbuhkan pada media ekstrak gula cokelat ditambah ekstrak ragi tertinggi pada kondisi pH 6 (Gambar 1). Pada kondisi yang sesuai, populasi *B. subtilis* akan meningkat dua kali lipat dalam kurun waktu tertentu. Waktu ini dikenal dengan waktu generasi atau waktu penggandaan, yang untuk *B. subtilis* adalah 28,5 menit pada suhu 40°C (Soesanto 2008).

Di dalam tanah, *B. subtilis* memanfaatkan eksudat akar dan bahan tanaman mati sebagai sumber nutrisi. Apabila kondisi lingkungan tidak sesuai bagi pertumbuhannya, misalnya karena suhu tinggi, tekanan fisik dan kimia, atau kahat nutrisi, bakteri akan membentuk endospora. Endospora akan berkembang jika kondisi lingkungan sesuai. Untuk mempertahankan viabilitasnya, endospora memerlukan bahan pembawa. Bahan pembawa endospora perlu diformulasi secara tepat agar bakteri tetap hidup dan efektif mengendalikan patogen.



Gambar 1. Pengaruh tingkat keasaman (pH) terhadap pertumbuhan *B. subtilis* pada media ekstrak gula cokelat ditambah ekstrak ragi setelah dikocok 50 rpm selama 10 jam (Muis 2006).

PATOGEN TULAR TANAH PADA TANAMAN JAGUNG

Rhizoctonia solani

Rhizoctonia solani merupakan cendawan yang menginfeksi tanaman jagung sejak di pembenihan hingga panen. Selain menyebabkan penyakit busuk pelepah, cendawan ini juga mengakibatkan busuk benih (*seed rot*) dan busuk bibit (*seedling blight*). Gejala serangan awal muncul pada fase sebelum tanaman berbunga. Infeksi biasanya dimulai dari pelepah daun terbawah kemudian menjalar ke bagian atas dengan gejala berupa bercak kemerahan kemudian berubah menjadi abu-abu. Kerusakan utama pada tanaman jagung di daerah tropis berupa busuk tongkol yang disertai dengan munculnya miselia serta sklerotia yang berwarna cokelat tua (Muis 2007) (Gambar 2).



Gambar 2. Gejala serangan busuk pelepah jagung (a); miselia dan sklerotia *Rhizoctonia solani* pada tongkol dan batang jagung (b) (Muis 2007).

***Fusarium* spp.**

Fusarium spp. merupakan cendawan yang menginfeksi batang dan tongkol jagung. Infeksi *F. graminearum* pada tongkol menyebabkan pembusukan dengan warna merah jambu yang berkembang dari ujung ke pangkal tongkol. *F. moniliforme* juga menyebabkan pembusukan pada biji jagung (Gambar 3). Warna biji yang busuk bervariasi dari merah jambu hingga cokelat kemerahan atau cokelat kelabu. Gejala ini baru dapat diketahui jika kelobot jagung dibuka (Talanca 2007).

PEMANFAATAN *B. subtilis* DALAM PENGENDALIAN PATOGEN TANAMAN

Pengendalian organisme pengganggu tanaman (OPT) difokuskan pada pengendalian yang ramah lingkungan dan berkelanjutan dengan memanfaatkan mikroorganisme yang bersifat entomopatogen ataupun antagonis. Salah satu mikroorganisme yang bersifat antagonis terhadap cendawan tular tanah adalah *B. subtilis*.

B. subtilis dapat ditemukan dalam air, tanah, udara, dan sisa-sisa tanaman. Bakteri ini menghasilkan beragam jenis enzim protease serta enzim lain yang mampu mendegradasi substrat alami dan berkontribusi terhadap perputaran hara (EPA 2003a). Selain itu, bakteri ini menghasilkan zat antimikroba berupa bakteriosin. Bakteriosin adalah zat antimikroba polipeptida atau protein yang diproduksi oleh mikroorganisme yang bersifat bakterisida. Bakteriosin membunuh sel target dengan menyisip pada membran target sehingga fungsi membran sel menjadi tidak stabil dan sel mengalami lisis (Compant *et al.* 2005).

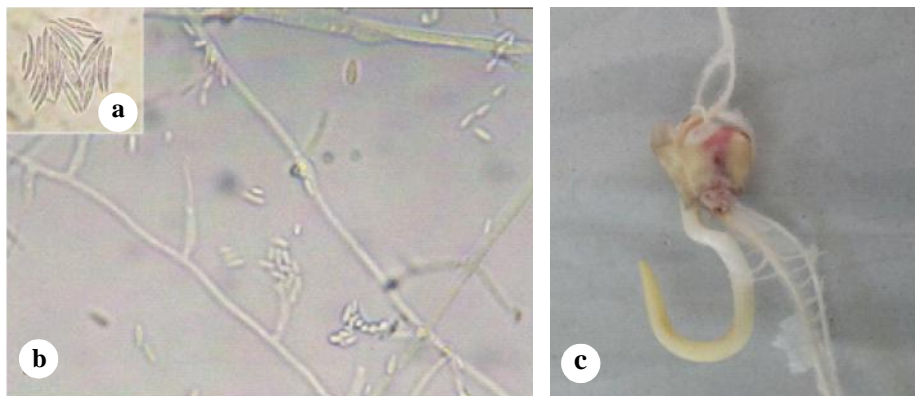
B. subtilis GB03 merupakan salah satu bakteri yang membentuk spora dan jika diaplikasikan pada benih/biji, bakteri tersebut dapat mengkolonisasi akar tanaman. Dengan demikian, bakteri tersebut dapat bersaing dan menekan cendawan penyebab penyakit seperti *Rhizoctonia*, *Fusarium*, dan *Aspergillus*. Bakteri ini lalu

hidup dan berkembang pada perakaran dan melindungi tanaman sepanjang musim (EPA 2003b).

Umumnya *B. subtilis* kurang kompetitif di daerah rhizosphere dibandingkan dengan *Pseudomonas* spp. Namun, kolonisasi perakaran oleh berbagai strain dari spesies ini pernah ditemukan. Secara relatif, populasi bakteri dengan tingkat kepadatan yang tinggi pernah diisolasi dari permukaan akar dan dari rhizosphere (Berger *et al.* 1996). Kemampuan *B. subtilis* dalam mengkolonisasi perakaran tomat telah diteliti secara *in vitro* oleh Kilian *et al.* (2000). Biji tomat yang diberi perlakuan *B. subtilis* ditanam pada media Gelrite-Murashige dan Skoog. Pada media tersebut, *B. subtilis* dapat mengkolonisasi perakaran dan rhizosphere, dengan ketebalan film bakteri di sekeliling perakaran berkisar antara 0,4–0,8 mm. Selain itu, permukaan perakaran tanaman menjadi lebih sehat dan lebih besar sehingga meningkatkan penyerapan air dan hara dari dalam tanah.

Isolat-isolat *B. subtilis*, *Aureobasidium pullulans*, dan *Rhodotorula glutinis* dapat mengendalikan penyakit pada apel yang disebabkan oleh patogen *Penicillium expansum*, *Botrytis cinerea*, dan *Pezizula malicorticis* (Leibinger *et al.* 1997). Mereka mengaplikasikan berbagai mikroorganisme antagonis pada tanaman apel pada akhir musim pertumbuhan selama dua tahun berturut-turut. Dari hasil observasi diketahui bahwa populasi bakteri patogen pada permukaan apel yang diberi perlakuan mikroorganisme antagonis menurun drastis. Setelah buah apel dipindahkan dari lapangan ke dalam tempat pendingin, populasi bakteri antagonis lebih banyak pada buah yang diberi perlakuan pengendalian.

Di Afrika Selatan, Korsten *et al.* (1997) menemukan bahwa aplikasi *B. subtilis* di lapangan sebelum panen yang dipadukan dengan penyemprotan *copper oxychloride* atau benomil secara konsisten mengurangi serangan penyakit bercak hitam avocado yang disebabkan oleh cendawan *Pseudocercospora purpurea*. Pada percobaan rumah kaca, Schisler *et al.* (2002) melaporkan bahwa *B. subtilis* strain AS 43.3 menurunkan infeksi *Giberella zeae* hingga 90%. Selanjutnya Gao *et al.*



Gambar 3. Bentuk makrokonidia (a) dan mikrokonidia dari *Fusarium moniliforme* (b) serta gejala serangan *F. moniliforme* pada benih jagung (c) (Suriani *et al.* 2015; Koleksi Pribadi. 2015).

(2015) mengemukakan bahwa *B. subtilis* secara signifikan mengurangi indeks penyakit embun tepung pada tanaman gandum. Bakteri ini tidak saja menghambat perkecambahan konidia dan pembentukan apresoria patogen, tetapi juga menghambat perkembangan haustoria dan pemanjangan miselia. Ashwini dan Srividya (2014) melaporkan bahwa *B. subtilis* mampu menghambat perkembangan penyakit antraknosa pada cabai yang disebabkan oleh cendawan *Colletotrichum gloeosporioides*. *B. subtilis* juga mampu mengendalikan penyakit layu pada tanaman tomat yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* (Chen *et al.* 2013).

Laporan lainnya menyebutkan bahwa *B. subtilis* menghasilkan antibiotik yang disebut iturin. Antibiotik ini efektif menekan pertumbuhan cendawan patogen seperti *Sclerotinia fruticola*, penyebab penyakit busuk cokelat pada buah *picked stone*. *B. subtilis* juga telah diuji terhadap cendawan patogen *Verticillium* dan *Streptomyces gramicifaciens* untuk mengendalikan penyakit busuk akar mentimun dan layu carnation pada tomat. Strain *B. subtilis* lainnya yakni QST 713 telah digunakan secara luas pada berbagai jenis tanaman pangan untuk mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh cendawan dan bakteri, di antaranya penyakit scab, embun tepung, busuk buah, bulai, hawar, dan bercak bakteri (EPA2003c).

Efektivitas *B. subtilis* dalam Mengendalikan Patogen Tular Tanah pada Jagung

B. subtilis dikategorikan sebagai bakteri PGPR, yakni bakteri yang aktif mengkoloni akar tanaman dan memiliki tiga peran utama bagi tanaman, yaitu sebagai biofertilizer, biostimulan, dan bioprotektan (Rai 2006). PGPR dapat memengaruhi tanaman secara langsung maupun tidak langsung. Pengaruh secara langsung yaitu dengan memfiksasi nitrogen, melarutkan fosfat, serta memproduksi siderofor dan hormon pertumbuhan. Secara tidak langsung *B. subtilis* dapat memperbaiki kondisi pertumbuhan tanaman melalui beberapa mekanisme.

Efektivitas *B. subtilis* dalam mengendalikan patogen tular tanah telah banyak dibuktikan. Hanudin *et al.* (2004) menyatakan bahwa aplikasi *B. subtilis* yang di-

kombinasikan dengan *Pseudomonas fluorescens* dalam formulasi emulsi dapat mengendalikan *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* pada anyelir hingga 63,63%. Hastopo *et al.* (2008) melaporkan bahwa perendaman bibit tomat dalam suspensi *B. subtilis* selama 10 menit dapat menekan perkembangan patogen *F. oxysporum* hingga 24,38%. Penggunaan *B. subtilis* pada tanaman tomat juga mampu menekan perkembangan *F. solani* hingga 82,1% (Ajilogba *et al.* 2013).

Pemanfaatan *B. subtilis* dalam pengendalian patogen tular tanah pada tanaman jagung telah banyak diteliti. Cavaglieri *et al.* (2005) melaporkan bahwa *B. subtilis* CE1 konsentrasi 10^8 sel/ml dapat menghambat perkembangan *Fusarium verticillioides* hingga 98,55% pada level rhizoplane dan 99,86% pada endorhizosfer jagung (Tabel 1). Efektivitas *B. subtilis* dalam menekan jumlah koloni patogen di perakaran dapat mendukung pertumbuhan dan perkembangan tanaman, terutama dalam penyerapan unsur hara. Hal ini juga terkait dengan peranan *B. subtilis* sebagai bakteri PGPR. Dengan mengaplikasikannya pada benih/biji, bakteri ini dapat berasosiasi dengan akar tanaman dan meningkatkan hasil panen melalui mekanisme meningkatkan serapan hara, menekan infeksi penyakit, atau memproduksi hormon (Kloepper *et al.* 1991). Canaday dan Ownley (1999) mengemukakan bahwa populasi *B. subtilis* pada akar kecambah *snap bean* berbanding lurus dengan jumlah *B. subtilis* yang diaplikasikan.

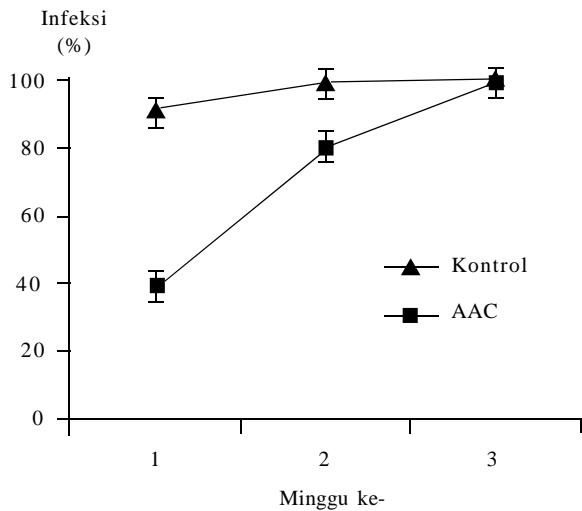
Uji efektivitas *B. subtilis* dalam mengendalikan *F. verticillioides* melalui mekanisme antibiosis dilaporkan oleh Hu *et al.* (2007). Senyawa aktif yang bersifat antijamur (*antifungal active compound/AAC*) dari *B. subtilis* strain B-FS01 yang diisolasi dari tanaman *Brassica napus* mampu menekan infeksi *F. verticillioides*. Perendaman benih jagung dalam AAC tersebut dapat menghambat infeksi *F. verticillioides* hingga 62% pada satu minggu setelah inokulasi (Gambar 4).

Antibiotik berupa fegisin yang terkandung dalam *B. subtilis* strain B-FS01 memegang peranan penting sebagai antijamur *F. verticillioides*. Antibiotik ini mampu menghambat pertumbuhan miselia dan spora *F. verticillioides* (Hu *et al.* 2007). Selain antibiotik, *B. subtilis* juga menghasilkan enzim protease, amilase, dan kulinase yang dapat mengurai dinding sel patogen.

Tabel 1. Jumlah koloni *Fusarium verticillioides* dalam jaringan akar jagung pada level rhizoplane dan endorhizosfer pada 20 HST.

Perlakuan perendaman benih dengan <i>B. subtilis</i> (sel/ml)	Jumlah koloni <i>F. verticillioides</i> per 1 g jaringan akar			
	Rhizoplane	Penghambatan (%)	Endorhizosfer	Penghambatan (%)
Kontrol	5,064 ± 3,061	0,00	5,756 ± 3,238	0,00
10^6	4,889 ± 3,397	3,45	4,948 ± 3,238	14,03
10^7	4,497 ± 4,061	11,20	3,695 ± 3,364	35,79
10^8	0,649 ± 2,447	98,55	0,008 ± 0,384	99,86

Sumber: Cavaglieri *et al.* (2005).



Gambar 4. Pengaruh AAC terhadap persentase serangan *Fusarium verticillioides* yang diaplikasikan melalui benih jagung. (▲: persentase serangan *F. verticillioides* pada benih jagung yang disemprot dengan air steril; ■: persentase serangan *F. verticillioides* pada benih yang disemprot dengan AAC) (Hu *et al.* 2007).

Kemampuan AAC *B. subtilis* dalam menekan pertumbuhan patogen lainnya dilaporkan oleh Muis dan Quimio (2006a). Sebanyak 41 strain isolat *Bacillus* diisolasi dari akar tanaman jagung yang dikumpulkan dari berbagai lokasi di Filipina. Hasil evaluasi secara *in vitro* terhadap isolat *R. solani* menunjukkan bahwa dari 41 isolat *Bacillus* tersebut, dua strain *B. subtilis* yakni BR23 dan BS100 sangat efektif menekan tujuh isolat *R. solani* virulen yang juga dikoleksi dari berbagai tempat di Filipina.

Agens hayati dapat dikembangkan melalui formulasi yang tepat untuk memudahkan aplikasi di lapangan dan memperpanjang masa simpan. *B. subtilis* dapat diformulasi dengan media cair berupa limbah organik atau media padat seperti talk dan tepung jagung (Khaeruni *et al.* 2013). Pengujian formulasi *B. subtilis* BR23 terhadap *R. solani* pada benih jagung menunjukkan efektivitas yang cukup tinggi (Muis dan Quimio 2006b). Hasil ini membuktikan bahwa pada tanah yang diinokulasi *R. solani* dua minggu sebelum tanam, persentase serangan *R. solani* pada tanaman yang diberi perlakuan *B. subtilis*

BR23 dengan dosis 10 g/kg hanya 6,95% dan 16,67% berturut-turut pada 30 dan 45 hari setelah tanam (HST). Persentase serangan ini lebih rendah dibandingkan dengan kontrol dengan persentase serangan 44,44% dan 50% berturut-turut pada 30 dan 45 HST (Tabel 2).

Pemanfaatan *B. subtilis* secara luas untuk mengendalikan patogen tular tanah pada tanaman jagung telah dilakukan. *B. subtilis* RRC 101 terbukti memiliki karakteristik endofit yang mampu melindungi tanaman jagung dari serangan patogen. Bakteri ini telah dipatenkan dengan nomor 5.994.117. Bakteri ini cukup efektif mengendalikan *F. moniliforme* jika diaplikasikan melalui perlakuan benih. Selain mampu menekan pertumbuhan *F. moniliforme*, *B. subtilis* RRC 101 juga merangsang pertumbuhan akar benih. Bacon *et al.* (2001) melaporkan bahwa penggunaan bakteri *B. subtilis* RRC 101 pada benih jagung menghasilkan panjang akar rata-rata 16,8 cm, sementara pada kontrol panjang akar 15,5 cm. Beberapa produk *B. subtilis* lainnya yang telah dikomersialkan untuk pengendalian patogen tular tanah adalah Kodiak® dan FZB24®WG. FZB24®WG mampu mengendalikan *R. solani* penyebab penyakit hawar pelepah jagung dan juga berperan sebagai PGPR yang baik untuk tanaman jagung. Sementara produk Kodiak® seperti dilaporkan oleh Backman *et al* (1994) dalam Elizabeth dan Handelsman (1998) telah digunakan pada 2 juta ha tanaman di Amerika Serikat pada tahun 1994. Kesuksesan produk Kodiak® terletak pada kemudahan formulasi dan masa penyimpanan produk yang relatif panjang.

KEUNGGULAN *B. subtilis* SEBAGAI AGEN PENGENDALI HAYATI

Pengendalian hayati dengan mikroba antagonis seperti *B. subtilis* memiliki potensi untuk dikembangkan. Selain secara alami, pengendalian hayati dapat dilakukan dengan manipulasi lingkungan melalui konservasi, augmentasi, dan introduksi agen hayati.

B. subtilis memiliki beberapa kelebihan dibandingkan dengan mikroorganisme lain. Kemampuan *B. subtilis* menghasilkan endospora yang tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrem dan dapat bertahan hidup lama menjadi keunggulan utama. Bakteri ini juga mudah

Tabel 2. Pengaruh perlakuan benih dengan *B. subtilis* BR23 terhadap daya tumbuh benih dan persentase serangan *R. solani* pada tanaman jagung varietas IPB Superseet yang ditanam pada plot yang diinfestasi dengan *R. solani*.

Perlakuan	Daya tumbuh benih (%)	Serangan <i>R. solani</i> (%)	
		30 HST	45 HST
Plot tanpa infestasi <i>R. solani</i>	100	0,00	0,00
Formulasi <i>B. subtilis</i> BR23	100	6,95	16,67
Fungisida Captan	100	16,67	27,78
Plot yang diinfestasi <i>R. solani</i>	100	44,44	50,00

Sumber: Muis dan Quimio (2006b).

diformulasi dalam berbagai produk. Hasil observasi lapangan menunjukkan bahwa *B. subtilis* dapat mengkolonisasi berbagai spesies tanaman. Muis *et al.* (2015) menyatakan bahwa *inert carrier* terbaik untuk formulasi *B. subtilis* ialah talk kemudian tepung jagung. Talk memiliki ukuran partikel yang sangat kecil, mudah menyebar, dan di dalam air membentuk suspensi yang kental dan mudah berikatan dengan larutan bakteri. Selain sebagai pengendali patogen tanaman, *B. subtilis* merupakan bakteri PGPR yang dapat meningkatkan persentase perkecambahan benih, vigor tanaman, pertumbuhan akar, dan biomassa tanaman (Muis *et al.* 2014).

Sifat saprofitik *B. subtilis* memudahkan bakteri ini dibiakkan secara massal pada limbah organik cair seperti air kelapa dan limbah cair pembuatan tahu. Dengan menambahkan sumber karbon, sumber nitrogen, dan unsur mikro diharapkan media tersebut dapat digunakan untuk pembiakan massal dengan biaya yang jauh lebih murah dibanding pembiakan pada media standar laboratorium (Luria Broth, Kings B, dan Trypticasein Soy Agar).

Dengan beberapa sifat khusus yang dimiliki, produksi *B. subtilis* sebagai agen hayati secara komersial bakteri banyak dilirik oleh para investor. Tabel 3 menyajikan

Tabel 3. Daftar formulasi *Bacillus subtilis* yang telah dikomersialkan di beberapa negara.

Sumber	Merek dagang	Organisme sasaran	Tanaman	Perusahaan	Referensi
<i>B. subtilis</i> GB03	Companion	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Pythium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>	Tanaman di rumah kaca dan kebun bibit	Growth Products, AS	Gardener dan Fravel (2002)
<i>B. subtilis</i> MBI600	Hi Stick N/T	<i>Fusarium</i> , <i>Rhizoctonia</i> , <i>Aspergillus</i>	Kedelai, alfalfa, kacang-kacangan	Becker Underwood Inc, MicroBio Group, Ltd. US	Gardener dan Fravel (2002)
<i>B. subtilis</i> GB03	Kodiak	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Aspergillus</i> spp., dan penyakit akar lainnya	Kapas, legum	Gustafson, Inc. AS	Gardener dan Fravel (2002)
<i>B. subtilis</i> QST716	Serenade	Bulai, embun tepung, bercak <i>Cercospora</i> , hawar awal, busuk daun, busuk cokelat, hawar api	Cucurbits, anggur, sayuran, kacang tanah	AgraQuets, Inc AS	Gardener dan Fravel (2002)
<i>B. subtilis</i> GB34	GB34	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i>	Kedelai	Gustafon, AS	Junaid <i>et al.</i> (2013)
<i>B. subtilis</i> BHN4	Prima-BAPF	Penyakit akar bengkak, rebah kecambah, layu fusarium, layu bakteri, busuk daun, <i>Rhizoctonia</i> , karat	Anyelir	Balai Penelitian Tanaman Hias	Badan Litbang Pertanian (2015)
<i>B. subtilis</i> BD170	Biopro			Bio-Protech GmbH, Jerman	Kinsella (2009)
<i>B. subtilis</i> FZB24	FZB24 @WG, Li dan TB	Busuk akar (<i>Alternaria</i> , <i>Curvularia radicola</i> , <i>Curvularia inequalis</i> , <i>Fusarium</i> spp., <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Verticillium</i> spp.)	Beberapa tanaman	ABiTEp GmbH, Jerman	Kinsella (2009); Cawoy <i>et al.</i> (2011)
<i>B. subtilis</i>	Nemaxxon Biol	Nematoda		GreenCorp, Meksiko	Trainer <i>et al.</i> (2014)
<i>B. subtilis</i>	Avogreen	<i>Colletotrichum gleosporioides</i> , bercak <i>Cercospora</i>	Alpukat	Ocean Agriculture, Afrika Selatan	Cawoy <i>et al.</i> (2011)
<i>B. subtilis</i>	Biosubtilin	<i>Fusarium verticillium</i> , <i>Phytium</i> , <i>Cercospora</i> , <i>Colletotrichum</i> , <i>Alternaria</i> , <i>Ascochyta</i> , <i>Macrophomina</i> , <i>Myrothecium</i> , <i>Rmularia</i> , <i>Xanthomonas</i> , <i>Erythepolyoni</i>	Kapas, serealia, tanaman sayuran	Biotech International Ltd, India	Cawoy <i>et al.</i> (2011)
<i>B. subtilis</i>	Cease	Patogen tular tanah (<i>Rhizoctonia</i> , <i>Phytium</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phytophthora</i>) dan patogen daun (<i>Botrytis</i> , <i>Erwinia</i> , <i>Xanthomonas</i>)	Beberapa tanaman	Bioworks Inc, AS	Cawoy <i>et al.</i> (2011)
<i>B. subtilis</i>	Ecoshot	Penyakit bercak abu-abu (<i>B. cinera</i>)	Anggur, jeruk, sayuran, tanaman legum	Kumiai Chemical Industry, Jepang	Cawoy <i>et al.</i> (2011)

Tabel 4. Viabilitas koloni *Bacillus subtilis* pada dua kondisi simpan selama 11 bulan.

Kondisi simpan	Viabilitas <i>B. subtilis</i> (cfu/ml) pada lama penyimpanan (bulan)					
	1	3	5	7	9	11
16°C	6.500 x 10 ⁴	296,7 x 10 ⁴	7,87 x 10 ⁴	299 x 10 ⁴	17,51 x 10 ⁴	11,95 x 10 ⁴
30°C	3.000 x 10 ⁴	36,7 x 10 ⁴	1,23 x 10 ⁴	78,1 x 10 ⁴	12,8 x 10 ⁴	2,93 x 10 ⁴

Sumber: Muis *et al.* (2014).

beberapa formulasi *B. subtilis* yang telah diproduksi oleh beberapa industri besar di seluruh dunia.

KENDALA PENGEMBANGAN DAN PEMANFAATAN *B. subtilis*

Pengembangan dan pemanfaatan agen hayati menghadapi beberapa kendala sehingga pengendalian kimiawi masih banyak diterapkan petani. Droby *et al.* (2009) dan Orbera *et al.* (2014) mengemukakan beberapa kendala pengembangan dan pemanfaatan agen hayati, yaitu:

- 1) Umumnya perusahaan pengembang agen hayati merupakan perusahaan kecil dan menengah yang terkadang terkendala dalam hal keuangan dan jaringan pemasaran.
- 2) Biopestisida yang mengandung *B. subtilis* difokuskan pada patogen. Biasanya pengujian biopestisida dilakukan secara *in vitro* sehingga mengabaikan aspek lingkungan dan tanaman inang. Akibatnya pada waktu pengujian di lapangan, terkadang organisme sasaran tidak tepat.
- 3) Proses pendaftaran produk sebelum dikomersialkan cukup sulit.
- 4) Penentuan formulasi harus tepat untuk kelangsungan hidup agen hayati dan mengurangi kontaminan. Reproduksi agen hayati dalam formulasi sangat penting untuk mempertahankan efektivitas di lapangan.

B. subtilis yang sudah diformulasi dan disimpan dalam beberapa waktu akan mengalami penurunan daya viabilitas. Perbedaan suhu penyimpanan berpengaruh nyata terhadap viabilitas formulasi *B. subtilis*. Muis *et al.* (2014) membuktikan bahwa formulasi *B. subtilis* yang disimpan pada suhu dingin (16°C) memiliki viabilitas yang lebih tinggi dibanding yang disimpan pada suhu ruang (30°C). Secara detail pengaruh lama waktu dan suhu penyimpanan terhadap viabilitas bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.

Data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa dalam kondisi penyimpanan yang berbeda, formulasi *B. subtilis* masih memiliki viabilitas yang baik hingga akhir pengamatan (11 bulan), yakni pada suhu 16°C sekitar 11,95 x 10⁴ cfu/ml dan pada suhu 30°C sekitar 2,93 x 10⁴ cfu/ml. Faktor penting yang memengaruhi pertumbuhan bakteri selain

kandungan nutrisi dalam media ialah aerasi, agitasi, pH, suhu, dan lama penyimpanan. Perbedaan suhu dan lama penyimpanan suatu formulasi dapat memengaruhi konsentrasi nutrisi sehingga berpengaruh terhadap pertumbuhan mikroba.

KESIMPULAN

Bacillus subtilis merupakan agen hayati yang efektif mengendalikan berbagai jenis patogen tanaman, termasuk patogen tular tanah pada jagung. Beberapa strain *B. subtilis* mampu menekan perkembangan *R. solani* dan *Fusarium* spp., di antaranya *B. subtilis* CE1, *B. subtilis* B-FS01, *B. subtilis* BR23, dan BS100. Untuk mempermudah aplikasi, *B. subtilis* dapat diformulasi dengan media cair berupa limbah organik dan media padat tepung talk. Produk *B. subtilis* komersial cukup efektif mengendalikan *R. solani* dan *Fusarium* spp. Selain sebagai agen hayati, *B. subtilis* juga mampu memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman.

Untuk memperluas kegunaan *B. subtilis* sebagai agen pengendali hayati, perlu dilakukan penelitian yang lebih intensif pada penyakit penting selain yang disebabkan oleh cendawan tular tanah. Penyakit yang disebabkan oleh cendawan tular udara seperti penyakit bulai yang disebabkan oleh *Peronosclerospora* spp. dan penyakit hawar daun yang disebabkan oleh *Bipolaris maydis*, merupakan penyakit penting pada tanaman jagung.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajilogba, C.F., O.O. Babalola, and F. Ahmad. 2013. Antagonistic effect of *Bacillus* species in biocontrol of tomato *Fusarium* wilt. *Ethno Med.* 7(3): 205–216.
- Ashwini, N. and S. Srividya. 2014. Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *Biotechnology* 4: 127–136.
- Bacon, C.W., I.E. Yates, D.M. Hinton, and F. Meredith. 2001. Biological control of *Fusarium moniliforme* in maize. *J. Environ. Health Perspectives* 109: 325–332.
- Badan Litbang Pertanian. 2015. Produk Prima BAPF. <http://bpatp.litbang.pertanian.go.id> [2 Oktober 2015].
- Bais, H.P., R. Fall, and J.M. Vivanco. 2004. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against infection of Arabidopsis roots by *Pseudomonas*

- syringae* is facilitated by biofilm formation and surfactin production. *Plant Physiol.* 134: 307–319.
- Berger, F., Li Hong, D. White, R. Frazer, and C. Leifert. 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density and plant species on biological control of *Phytophthora* and *Pythium* damping off by *Bacillus subtilis* Cot 1 in high humidity fogging glasshouses. *Phytopathology* 86: 428–433.
- Canaday, C.H. and B.H. Ownley. 1999. Effects of seed treatment chemicals and *Bacillus subtilis* on snap bean seedling diseases, growth, and yield. The University of Tennessee. <http://www.bioenr.ag.utk.edu>. [2 October 2015].
- Cavaglieri, L., J. Orlando, M.I. Rodriguez, S. Chulze, and M. Etcheverry. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Res. Microbiol.* 156: 748–754.
- Cawoy, H., W. Bettiol, P. Fickers, and M. Ongena. 2011. *Bacillus*-based biological control of plant disease. *Pesticides in the Modern World - Pesticide Use and Management*. pp. 273–302. <http://www.intechopen.com> [2 October 2015].
- Chen, Y., F. Yan, Y. Chai, H. Liu, R. Kolter, R. Losick, and J.H. Guo. 2013. Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. *Environ. Microbiol.* 15(3): 848–864.
- Compant, S., R. Birgit, S. Angela, N. Jerzi, C. Christophe, and A.B. Essaid. 2005. Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(4): 1685–1693.
- Droby, S., M. Wisniewski, D. Macorisin, and C. Wilson. 2009. Twenty years of post harvest biocontrol research: is it time for a new paradigm?. *Postharvest Biol. Technol.* 52: 137–145.
- EPA (US Environmental Protection Agency). 2003a. *Bacillus subtilis* TSCA Section 5(h)(4) Exemption: Final Decision Document. <http://www.epa.gov>. [5 Juli 2015].
- EPA (US Environmental Protection Agency). 2003b. *Bacillus subtilis* GB03 (129068). <http://www.epa.gov>. [5 Juli 2015].
- EPA (US Environmental Protection Agency). 2003c. *Bacillus subtilis* QST713 (006479). <http://www.epa.gov>. [5 Juli 2015].
- Elizabeth, A.B.E. and J. Handelsman. 1998. Biocontrol of plant disease: a (gram-) positive perspective. *Fems Microbiol. Lett.* 171: 1–9.
- Gao, X., Y. Gong, Y. Huo, Q. Han, Z. Kang, and L. Huang. 2015. Endophytic *Bacillus subtilis* strain E1R-J is a promising biocontrol agent for wheat powdery mildew. *BioMed Res. International volume 2015*: 1-8.
- Gardener, B.B.S. and D.R. Fravel. 2002. Biological control of plant pathogens: Research, commercialization and application in the USA. <http://www.apsnet.org> [20 September 2015].
- Hanudin, Silvai, E. Marwoto, B. Saefuloh, A. Mulya, dan Mahmud. 2004. Formulasi cair *Pseudomonas fluorescens* untuk pengendalian *Fusarium oxysporum* f.sp. dianthi pada anyelir. *Holtikultura* (14): 403–409.
- Hastopo, K., L. Soesanto, dan E. Mugiastuti. 2008. Penyehatan tanah secara hayati di tanah tanaman tomat terkontaminasi *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *J. Akta Agrosia* 11(2): 180–187
- Hu, L.B., Z.Q. Shi, T. Zhang, and Z.M. Yang. 2007. Fegycin antibiotic isolated from B-FS01 culture inhibit the growth of *Fusarium moniliforme* Sheldon ATCC 38932. *FEMS Microb. Lett.* 272: 91–98.
- Junaid, J.M., N.A. Dar, T.A. Bhat, A.H. Bhat, and M.A. Bhat. 2013. Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. *Int'l. J. Modern Plant Anim. Sci.* 1(2): 39–57.
- Khaeruni, A., Asrianti, 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.
- Kilian, M., U. Steiner, B. Krebs, H. Junge, G. Schmiedeknecht, and R. Hain. 2000. FZB24® *Bacillus subtilis*—mode of action of a microbial agent enhancing plant vitality. *Pflanzenschutz—Nachrichten Bayer* 1/00 1: 72–93.
- Kinsella, K. 2009. Production of two lipopeptide antibiotic by *Bacillus subtilis* in the rhizosphere. *Disertation. University of Connecticut*. <http://books.google.co.id> [25 September 2015].
- Kloepper, J.W., R.M. Zablutowick, E.M. Tipping, and R. Lifshitz. 1991. Plant growth promotion mediated by bacterial rhizosphere colonizers. In D.L. Kliester, and P.G. Cregan (Eds), *The Rhizosphere and Plant Growth*. Kluwer Academic Press, Dordrecht, The Netherlands. pp. 315–326.
- Korsten, L., E.E. de Villiers, F.C. Wehner, and J.M. Kotzé. 1997. Field sprays of *Bacillus subtilis* and fungicides for control of preharvest fruit diseases of avocado in South Africa. *Plant Dis.* 81: 455–459.
- Leibinger, W., B. Breuker, M. Hahn, and K. Mendgen. 1997. Control of postharvest pathogens and colonization of the apple surface by antagonistic microorganisms in the field. *Phytopathology* 87: 1103–1110.
- Muis, A. and A.J. Quimio. 2006a. Effectiveness of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn against *Rhizoctonia solani* Kuhn in vitro. *Agroland* 13(3): 234–239.
- Muis, A. and A.J. Quimio. 2006b. Biological control of banded leaf and sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* Kuhn) in corn with formulated *Bacillus subtilis* BR23. *Indones. J. Agric. Sci.* 7(1): 1–7.
- Muis, A. 2006. Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control. *Indones. J. Agric. Sci.* 7(2): 51–56.
- Muis, A. 2007. Pengelolaan penyakit busuk pelepah (*Rhizoctonia solani* Kuhn.) pada tanaman jagung. *J. Litbang Pert.* 26(3): 100–103
- Muis, A., N. Nonci, dan N. Djaenuddin. 2014. Viabilitas dan uji formulasi bakteri antagonis sebagai biopestisida pengendalian penyakit hawar upih daun *Rhizoctonia solani* dan bercak daun *Bipolaris maydis*. Disampaikan pada seminar dua minggu Balitsereal 3 November 2014.
- Muis, A., N. Nonci, dan N. Djaenuddin. 2015. Evaluasi lima jenis inert carrier dan formulasi *Bacillus subtilis* untuk pengendalian hawar pelepah jagung (*Rhizoctonia solani* Kuhn). *J. HPT Tropika* 15(2): 164–169.
- Nurul, H. dan Djajadi. 2009. Sifat-sifat tanah yang memengaruhi perkembangan patogen tular tanah pada tanaman tembakau. *J. Perspektif* 8(2): 74–83.
- Orbera, T.D.L.M., M.D.J. Serrat, and E. Ortega. 2014. Potential applications of *Bacillus subtilis* strain SR/B-16 for the control of phytophogenic fungi in economically relevant crop. *Biotechnological Aplicada* 31(1): 13–17.
- Rai, M.K. 2006. *Hand Book of Microbial Biofertilizers*. Food Products Press, An Imprint of the Haworth Press, Inc., New York. pp. 137–182.
- Ryu, H., H. Park, D.S. Suh, G.H. Jung, K. Park, and B. D. Lee. 2014. Biological control of *Colletotrichum panacicola* on Panax ginseng by *Bacillus subtilis* HK-CSM-1. *J. Ginseng Res.* (38): 215–219.

- Schisler, D.A., N.I. Khan, M.J. Boehm, and P.J. Slininger. 2002. Greenhouse and field evaluation of biological control of *Fusarium* head blight on durum wheat. *Plant Dis.* 86: 1350–1356.
- Soenartiningih, M.S. Pabbage, dan N. Djaenuddin. 2011. Penggunaan inokulum antagonis (*Trichoderma* dan *Gliocladium*) dalam menekan penyakit busuk pelepah pada jagung. *Prosiding Seminar Nasional Serealia 2011*: 478–484.
- Soenartiningih. 2013. Potensi cendawan mikoriza arbuskular sebagai media pengendalian penyakit busuk pelepah pada jagung. *Iptek Tanaman Pangan* 8(1): 48–53.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta. 574 hlm.
- Soesanto, L., E. Mugiastuti, dan R.F. Rahayuniati. 2011. Inventarisasi dan identifikasi patogen tular tanah pada pertanaman kentang di Kabupaten Purbalingga. *J. Hortikultura* 21(3): 254–264.
- Suriani, N. Amin, dan L. Daha. 2014. Pemanfaatan ekstrak kompos sampah rumah tangga dan *Bacillus* spp. dalam mengendalikan penyakit busuk buah (*Phytophthora palmivora* Butler) pada kakao di Kabupaten Soppeng. Disampaikan pada seminar dua mingguan Balitsereal, Malang.
- Talanca, A.H. 2007. Penyakit busuk batang jagung (*Fusarium* sp.) dan pengendaliannya. *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan PEI dan PFI XVIII Komda SulSel*.
- Trainer, M.S., J.P. Gros, R.D.L.C. Quiroz, C.N.A. Gonzales, T. Mateille, and S. Roussos. 2014. Commercial biological control agents targeted against plant-parasitic root-knot nematodes. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 57(6): 831–841.
- Zongzheng, Y., L. Xin, L. Zhong, P. Jinzhao, Q. Jin, and Y. Wenyan. 2009. Effect of *Bacillus subtilis* SYS on antifungal activity and plant growth. *Int'l. J. Agric. Biol. Engin.* 2(4): 55–61.