

**AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT BAKTERI  
ASAL SARANG RAYAP SEBAGAI BIOKONTROL  
FUNGI PATOGEN TANAMAN**

SKRIPSI

Diajukan untuk Memenuhi Sebagian Syarat Guna Memperoleh  
Gelar Sarjana Biologi



**Oleh: Muhammad Yusrun Niam**

**NIM : 1708016033**

**PROGRAM STUDI S-1 BIOLOGI  
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO SEMARANG  
2021**

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Muhammad Yusrun Niam

NIM : 1708016033

Program studi : Biologi

Menyatakan bahwa skripsi yang berjudul:

**“AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT BAKTERI ASAL SARANG  
RAYAP SEBAGAI BIODKONTROL FUNGI PATOGEN  
TANAMAN”**

Secara keseluruhan adalah hasil penelitian/karya saya sendiri, kecuali bagian tertentu yang dirujuk sumbernya.

Semarang, 07 Desember 2021

Pembuat Pernyataan



Muhammad Yusrun Niam  
NIM. 1708016033

## LEMBAR PENGESAHAN



KEMENTERIAN AGAMA REPUBLIK INDONESIA  
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI WALISONGO  
**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**  
Jl. Prof. Dr. Hamka Ngaliyan Semarang  
Telp.024-7601295 Fax. 7615387

### PENGESAHAN

Naskah skripsi berikut ini:

Judul : Aktivitas Antifungi Isolat Bakteri Asal Sarang Rayap  
sebagai Biokontrol Fungi Patogen Tanaman

Penulis : **Muhammad Yusrun Niam**

NIM : 1708016033

Jurusan : S1 Biologi

Telah diujikan dalam sidang *tugas akhir* oleh Dewan Penguji  
Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo dan dapat  
diterima sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana  
dalam ilmu Biologi.

Semarang, 29 Desember 2021

#### DEWAN PENGUJI

Penguji I,

**Abdul Malik, M.Si.**

NIP. 19891103201801001

Penguji II,

**Masrukhin, M.Si.**

NIP. 199204212019021005

Penguji III,

**Dr. Ling. Rusmadi, M.Si.**

NIDN. 2026018307

Penguji IV,

**Anisa Sari Mukaromah, M.Sc.**

NIP. 198709112018012001

Pembimbing I,

**Abdul Malik, M.Si.**

NIP. 19891103201801001

Pembimbing II,

**Masrukhin, M.Si.**

NIP. 199204212019021005

## NOTA DINAS

Semarang, 07 Desember 2021

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo di Semarang

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT BAKTERI ASAL SARANG RAYAP SEBAGAI BIOKONTROL FUNGI PATOGEN TANAMAN**

Penulis : Muhammad Yusrun Niam

NIM : 1708016033

Program studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang *Munaqasyah*.

*Wassalamu'alaikum wr. Wb.*

Pembimbing I,



**Abdul Malik, M.Si.**

**NIP. 19891103201801001**

## NOTA DINAS

Semarang, 07 Desember 2021

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Walisongo di Semarang

*Assalamu'alaikum wr. wb.*

Dengan ini diberitahukan bahwa saya telah melakukan bimbingan, arahan dan koreksi naskah skripsi dengan:

Judul : **AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT BAKTERI ASAL SARANG RAYAP SEBAGAI BIODIKONTROL FUNGI PATOGEN TANAMAN**

Penulis : Muhammad Yusrun Niam

NIM : 1708016033

Program Studi : Biologi

Saya memandang bahwa naskah skripsi tersebut sudah dapat diajukan kepada Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo untuk diujikan dalam Sidang *Munaqasyah*.

*Wassalamu'alaikum wr. wb.*

Pembimbing II,



Masrukhin, M.Si.

NIP. 199204212019021005

## ABSTRAK

Salah satu penyebab penyakit pada tanaman adalah fungi patogen tanaman, seperti *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Aspergillus flavus*. Pengendalian fungi patogen tanaman biasanya menggunakan fungisida, namun penggunaan fungisida yang berlebih memiliki dampak negatif terhadap lingkungan, sehingga diperlukan alternatif biokontrol fungi patogen tanaman. Salah satu alternatif biokontrol fungi patogen tanaman merupakan isolat bakteri penghasil antifungi asal sarang rayap. Namun, kajian tentang isolat bakteri dari sarang rayap sebagai agen biokontrol fungi patogen tanaman masih sedikit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan antifungi isolat bakteri asal sarang rayap, kandungan senyawa kimia antifungi yang dihasilkan isolat bakteri dan potensi jenis isolat bakteri yang memiliki aktivitas antifungi terhadap fungi patogen tanaman fungi *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Aspergillus flavus*. Isolasi bakteri dilakukan dari tiga sampel sarang rayap, yaitu MYN.SR.A, MYN.SR.B, dan MYN. SR.C. Hasil dari isolasi bakteri didapatkan 44 isolat bakteri dan isolat bakteri B7, B13 dan B16 memiliki aktivitas antifungi terbaik. Kandungan senyawa kimia tidak diamati karena hasil uji ekstrak etil asetat isolat bakteri B7, B13, dan B16 menunjukkan hasil negatif. Hasil negatif disebabkan oleh media kultur cair *Yeast Extract Glucose Agar* kurang sesuai terhadap isolat Bakteri B7, B13, dan B16 sehingga senyawa antifungi belum tersekresikan dengan optimal. Berdasarkan identifikasi gen 16SrRNA isolat bakteri B7, B13, dan B16 merupakan spesies *Streptomyces murinus*. Genus *Streptomyces* merupakan salah satu genus bakteri yang memiliki rentang kemampuan antimikrobia yang sangat luas.

*Keyword: Aspergillus flavus, Biokontrol, Colletotrichum gloeosporioides, Fusarium oxysporum, Sarang Rayap, Streptomyces murinus*

## ABSTRACT

One of the causes of disease in plants is plant pathogenic fungi, such as *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Aspergillus flavus*. Control of plant pathogenic fungi usually uses fungicides, however the use of fungicides has a negative impact on the environment, hence other alternative biocontrol of plant pathogenic fungi is needed. One alternative for biocontrol of plant pathogenic fungi is an antifungal-producing bacterial isolate from termite nests. However, studies on bacterial isolates from termite nests as biocontrol agents for plant pathogenic fungi are still few. This study aims to determine the antifungal ability of bacterial isolates from termite nests, the content of antifungal chemical compounds produced by bacterial isolates and the potential of bacterial isolates that have antifungal activity against plant pathogenic fungi *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, and *Aspergillus flavus*. Bacterial isolation was carried out from three samples of termite nests, namely MYN.SR.A, MYN.SR.B, and MYN. SR.C. The results of bacterial isolation obtained 44 bacterial isolates and bacterial isolates B7, B13 and B16 had the best antifungal activity. the chemical compound content was not observed because the test results of the ethyl acetate extract of bacterial isolates B7, B13, and B16 showed negative results. Negative results were provided by Yeast Extract Glucose Agar liquid culture media that were not compatible with B7, B13, and B16 bacterial isolates so that antifungal compounds had not been secreted optimally. Based on the 16SrRNA gene, bacterial isolates B7, B13, and B16 were species of *Streptomyces murinus*. The genus *Streptomyces* is a genus of bacteria that has a very wide range of antimicrobial abilities.

*Keywords: Aspergillus flavus, Biocontrol, Colletotrichum gloeosporioides, Fusarium oxysprum, Streptomyces murinus, Termite Nest.*

## TRANSLITERASI ARAB-LATIN

Pedoman penulisan skripsi ini mengikuti pedoman transliterasi huruf arab latin SKB (Sesuai Keputusan Bersama) Menteri Agama dan Menteri Pendidikan dan Menteri Kebudayaan R.I. Nomor: 158 tahun 1987 dan Nomor: 0543b/U/1987 sebagai berikut:

ا	A	ط	T
ب	B	ظ	Z
ت	T	ع	'
ث	S	غ	G
ج	J	ف	F
ح	H	ق	Q
خ	KH	ك	K
د	D	ل	L
ذ	Z	م	M
ر	R	ن	N
ز	Z	و	W
س	S	ها	H
ش	SY	ء	'
ص	S	ي	Y
ض	D		

Keterangan: penulisan kata sandang (al-) dalam teks ditulis menyesuaikan rujukan.



## KATA PENGANTAR

Alhamdulillah segala puji penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir yang berjudul ***“AKTIVITAS ANTIFUNGI ISOLAT BAKTERI ASAL SARANG RAYAP SEBAGAI BIOKONTROL FUNGI PATOGEN TANAMAN”***. Tugas akhir ini disusun sebagai salah satu syarat untuk kelulusan di Prodi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

Sholawat dan salam penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW yang telah memberi teladan bagi umatnya untuk selalu berjuang mencari ilmu. Penyusunan tugas akhir ini tidak lepas dari campur tangan banyak pihak dalam memberi bimbingan dan arahan sehingga tugas akhir ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu, dengan penuh rasa hormat penulis sampaikan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Prof. Dr. H. Imam Taufiq, M.Ag. selaku Rektor UIN Walisongo Semarang.
2. Dr. Ismail, M.Ag. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang
3. Ibu Baiq Farhatul Wahida, S.Si., M.Si., selaku Ketua Program Studi Biologi dan dosen wali yang telah memberikan arahan, bimbingan dan masukan selama perkuliahan, serta

Bapak Dr. Ling. Rusmadi, S.Th., M.Si. selaku Sekretaris Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Walisongo Semarang.

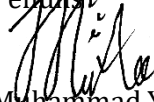
4. Bapak Abdul Malik, M.Si., selaku dosen pembimbing I dan Bapak Masrukhin. M.Si., selaku dosen pembimbing II yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk memberikan bimbingan dan pengarahan dalam penyusunan skripsi ini.
5. Segenap dosen, pegawai, dan seluruh civitas akademika di lingkungan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Walisongo Semarang khususnya dosen prodi Biologi.
6. Kedua orang tua serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa serta dukungannya baik secara moril maupun materiil, sehingga saya dapat menyelesaikan kuliah serta skripsi ini.
7. Rofi Musfiroh yang telah membantu proses sampling.
8. M. Akmal Surur, Ulwiyah, Ami Nurohmah, dan Malia Ulfah yang sudah memberi bantuan.
9. Teman-teman prodi biologi angkatan 2017 (Biosquad'2017) dan seluruh pihak yang tidak bisa disebutkan satu-persatu.

Penulis mengucapkan termakasih kepada semua pihak yang telah membantu dan memberikan dukungan. Semoga Allah

SWT membalas semua kebaikan yang telah diberikan. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini belum mencapai kesempurnaan. Namun penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca. Aamiin

Semarang, 7 Desember 2021

Penulis,



Muhammad Yusrun Niam

1708016033

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL SKRIPSI</b> .....	<b>i</b>
<b>PERNYATAAN KEASLIAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>NOTA DINAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>vi</b>
<b>TRANSLITERASI ARAB-LATIN</b> .....	<b>viii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan masalah .....	6
C. Tujuan penelitian.....	6
D. Manfaat penelitian .....	7
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	<b>9</b>
A. Penyakit Tanaman .....	9
B. Fungi Patogen Tanaman .....	17
1. <i>Fusarium oxysporum</i> .....	18
2. <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> .....	22
3. <i>Aspergillus flavus</i> .....	24
C. Biokontrol.....	26

D. Sarang Rayap.....	28
E. Ekstraksi Metabolit Sekunder .....	29
F. <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)</i> .....	32
G. <i>Polymerase chain reaction (PCR)</i> .....	34
H. Sekuensing DNA.....	37
I. <i>Unity of Science (UoS)</i> .....	38
J. Kajian Penelitian Terdahulu .....	40
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b> .....	<b>47</b>
A. Tempat dan waktu penelitian .....	47
B. Alat dan Bahan.....	47
1. Alat.....	47
2. Bahan .....	47
C. Prosedur Kerja.....	48
1. Koleksi dan Preparasi Sampel sarang rayap .....	48
2. Isolasi Bakteri dari sarang rayap .....	48
3. Skrining bakteri penghasil antifungi terhadap fungi patogen .....	50
4. Ekstraksi metabolit sekunder bakteri potensial.....	51
5. Analisis senyawa kimia ekstrak etil asetat isolat bakteri dengan aktivitas antifungi .....	53
6. Identifikasi molekuler bakteri potensial penghasil antifungi menggunakan sekuen gen 16s rRNA.....	53
7. Alur Penelitian .....	55
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>57</b>
1. Isolasi bakteri asal sarang rayap.....	57

2. Skrining aktivitas antifungi .....	63
3. Ekstraksi antifungi dan uji ekstrak antifungi.....	68
4. Identifikasi molekuler bakteri berdasarkan gen 16S rRNA .....	71
<b>BAB V PENUTUP</b> .....	79
A. Kesimpulan .....	79
B. Saran .....	79
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	81
<b>LAMPIRAN</b> .....	109
Lampiran 1 .....	109
Lampiran 2 .....	109
Lampiran 3 .....	113
Lampiran 4 .....	121
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	129

## DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Kepolaran Pelarut Organik .....	31
Tabel 4. 1 Hasil pengamatan uji antifungi ekstrak etil asetat isolat bakteri .....	69
Tabel 4. 2 Media yang telah dilaporkan baik dalam proses produksi senyawa antifungi oleh bakteri .....	71
Tabel 4. 3 Hasil identifikasi isolat bakteri B7, B13, dan B16 pada perangkat lunak online Ez-Biocloud.....	75

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Skema Segitiga Penyakit.....	16
Gambar 2. 2 Karakter Morfologi <i>Fusarium oxysporum</i> .....	20
Gambar 2. 3 Karakter Morfologi <i>Coletrotrichum gloeosporioides</i> .....	23
Gambar 2. 4 Morfologi mikroskopis <i>Aspergillus flavus</i> ..	26
Gambar 3. 1 Sampel sarang rayap.....	49
Gambar 3. 2 Skema Teknik Skrining Antifungi.....	51
Gambar 3. 3 Alur Penelitian.....	55
Gambar 4. 1 Contoh hasil positif skrining isolat bakteri terhadap fungi patogen .....	64
Gambar 4. 2 Hasil negatif uji antifungi ekstrak etil asetat isolat bakteri B13 terhadap fungi F23.....	69
Gambar 4. 3 Gel elektroforesis pretreatment sekuensing DNA. .....	72
Gambar 4. 4 Analisis rekonstruksi filogenetik isolat B7, B13, dan B16 .....	74



## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Penyakit tanaman merupakan gangguan fungsi fisiologis lokal atau sistemik pada tanaman yang menyebabkan perkembangan abnormal sehingga mengganggu fungsi normal dari tanaman tersebut (Lucas *et al.*, 1992; Tampakaki *et al.*, 2009). Penyebab penyakit pada tanaman ada dua faktor yaitu faktor biotik dan faktor abiotik. Contoh faktor biotik yang mempengaruhi penyakit pada tanaman adalah mikroorganisme (jamur, bakteri, virus dll) serta parasit (nematoda). Sedangkan faktor abiotik yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman adalah faktor lingkungan, gangguan nutrisi, dan bahan kimia (Lucas *et al.*, 1992).

Fungi patogen tanaman menyebabkan penyakit pada tanaman dengan cakupan yang cukup besar yaitu sekitar 70-80% (Dayarathne, *et al.*, 2020). Penyakit tanaman yang disebabkan jamur biasanya menunjukkan gejala yang bervariasi seperti terjadinya bercak daun, hawar pada tanaman, busuk akar, busuk batang, busuk lunak dan kering, antraknosa, *dumping-off*, *dieback*, kanker tanaman dll (Agrios, 2005). Berdasarkan penelitian Dean *et al.*, (2012) *Fusarium* dan *Colletotrichum* termasuk kedalam fungi patogen yang sangat luas persebarannya.

Fungi *Fusarium* merupakan jenis patogen pada tanaman yang sangat sulit untuk dikendalikan. Fungi ini merupakan jenis fungi yang dapat menular melalui tanah (Arie, 2019). Pada hasil penelitian sebelumnya, Ploetz (2006) menunjukkan bahwa *Fusarium oxysporum* merupakan jenis *Fusarium* yang paling sering menginfeksi tanaman. *Fusarium oxysporum* ini telah dilaporkan banyak menginfeksi tanaman seperti pisang, melon, tomat, kapas, buncis, dan strawberi (McGovern, 2015; Gava & Pinto, 2016; Henry, *et al.*, 2017; Halpern, *et al.*, 2018; Zaim, *et al.*, 2018; Damodaran, *et al.*, 2019). Serangan *Fusarium oxysporum* ini tentunya akan mengurangi produktivitas tanaman-tanaman tersebut.

Selain *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum* juga merupakan fungi yang banyak menginfeksi tanaman. *Colletotrichum* menyebabkan penyakit antraknosa pada berbagai jenis tanaman mulai dari pohon sampai jenis rerumputan (Ajay Kumar, 2014). Salah satu spesies dari genus *Colletotrichum* yaitu *Colletotrichum gloeosporioides* yang dapat menginfeksi tanaman pada rentang yang sangat luas. Sharma & Kulshrestha (2015) menyebutkan bahwa *Colletotrichum gloeosporioides* dapat menginfeksi mangga, pepaya, jambu biji, apel custard, delima dan berbagai tanaman buah lainnya. *Colletotrichum gloeosporioides* juga memberikan kerugian pra-panen serta pasca panen. Persebaran fungi ini dapat berasal

dari benih yang sudah tertular, spora fungi yang terbawa hujan, ataupun terbawa oleh angin.

Kemudian, selain *Fusarium oxysporum* dan *Colletotrichum gloeosporioides*, fungi *Aspergillus flavus* juga merupakan fungi patogen tanaman yang memiliki persebaran yang luas. Fungi *Aspergillus flavus* merupakan fungi patogen tanaman yang bersifat oportunistik pada tanaman pertanian, seperti jagung, kacang tanah, dan biji kapas (Amaike & Keller, 2011). Selain itu, fungi *Aspergillus flavus* juga dapat menginfeksi tomat (Tijjani *et al.*, 2014a) dan *Dioscorea rotundata* umbi putih (Gwa & Akombo, 2016). Guffar *et al.*, (2020) menjelaskan bahwa *first case* infeksi fungi *Aspergillus flavus* pada tanaman anggur di pakistan yang menyebabkan sekitar 15% tanaman anggur membusuk.

Pengendalian fungi patogen dapat menggunakan fungisida. Fungisida merupakan salah satu jenis pestisida yang digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman yang disebabkan oleh fungi (Leadbeater, *et al.*, 2019). Penggunaan fungisida yang berlebihan dan tidak sesuai aturan akan memberikan dampak negatif terhadap lingkungan serta masyarakat sekitar (Adriyani, 2006; Afriyanto, 2008; Ardiwinata & Nursyamsi, 2012; Sari, 2018). Sehingga diperlukan agen biokontrol lain untuk mengendalikan fungi patogen.

Alternatif lain dalam pengendalian infeksi fungi patogen dapat menggunakan bakteri antagonis sebagai agen biokontrol. Berdasarkan penelitian Islam *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* melawan *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum*. Isolat *Pseudomonas aeruginosa* menunjukkan aktivitas antagonis tertinggi sekitar 58,33% (penghambatan pertumbuhan miselium), pengurangan maksimum biomassa jamur (90,20%), sedangkan filtrat dan ekstrak kasar etil asetat dapat menghambat pertumbuhan miselium sebesar 56,66 dan 25,0%. Sedangkan pada penelitian Jangir, *et al.*, (2018) menyebutkan bahwa bakteri *Bacillus sp.* yang diisolasi dari rizosfer tomat memiliki kemampuan antifungi, selain itu isolat tersebut memproduksi enzim hidrolitik seperti  $\beta$ -1,3-glucanase ( $15.61 \text{ U ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ), protease ( $1608.15 \text{ U ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ), dan chitinase ( $129 \text{ U ml}^{-1} \text{ min}^{-1}$ ), serta juga menghasilkan metabolit volatil dan non-volatil. Hasil analisis senyawa kimia isolat *Bacillus sp.* menggunakan GC-MS terdapat 5 senyawa yang tinggi konsentrasinya yaitu 1,2-benzenedicarboxylic acid (23.99%), 6-undecylamine (6.61%), 2-methyloctacosane (5.91%), 9-octadecenoic acid (5.13%) dan 1-tetradecanamine, N,Ndimethyl (5.05%).

Isolat bakteri yang bermanfaat sebagai agen biokontrol fungi patogen memiliki jumlah sangat bervariasi mulai dari

bakteri rizosfer tanaman, bakteri endofit, bakteri dari sedimen ekosistem mangrove, serta bakteri yang diisolasi dari sarang rayap (Sujada, *et al.*, 2014; del Ángel, *et al.*, 2017; Rishad, *et al.*, 2017; Islam, *et al.*, 2018; Jangir, *et al.*, 2018). Pada penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sujada, *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa sarang rayap merupakan sumber strain bakteri penghasil senyawa bioaktif yang sangat melimpah. Strain yang diperoleh merupakan golongan aktinobakteria, yaitu bakteri gram positif yang memiliki kadar G+C yang sangat tinggi pada DNA-nya. Krishanti, *et al.*, (2018) juga telah melakukan isolasi aktinobakteria dari sarang rayap yang diambil dari cagar alam Pananjung Pangandaran, Jawa Barat, Indonesia. Isolat aktinobakteria potensial yang diperoleh kemudian diidentifikasi menggunakan gen 16s rRNA menunjukkan bahwa isolat tersebut merupakan *Streptomyces prasinopilosus*.

Penelitian terdahulu Sujada *et al.*, (2014) berfokus pada bentuk sarang rayap, yaitu *carton, subterranean, nests (mound)* dari daerah hutan tropis dan areal pertanian pohon karet di provinsi Phayao, Thailand., sedangkan penelitian Krishanti *et al.*, (2018) berfokus ke jenis sarang rayap *Nasutitermes sp.* yang diambil dari Cagar Alam Pananjung Pangandaran, Jawa Barat, Indonesia. Sujada *et al.*, (2014) dan Krishanti *et al.*, (2018) juga

mengevaluasi kemampuan isolat bakteri yang didapat dari sarang rayap sebagai agen antimikroba.

Perbedaan mendasar bahwa penelitian ini fokus kepada bentuk sarang rayap yang digunakan yaitu tipe sarang rayap *arboreal*, kemudian aktivitas antifungi isolat bakteri yang didapatkan, identifikasi kandungan senyawa kimia isolat bakteri yang potensial menghasilkan antifungi, serta belum ada penelitian yang meneliti tentang isolat bakteri dari sarang rayap di hutan perbukitan lereng Gunung Muria, Desa Tempur, Kec. Keling, Kab. Jepara, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Sehingga peneliti mengangkat judul penelitian "*Aktivitas Antifungi Isolat Bakteri Asal Sarang Rayap Sebagai Biokontrol Fungi Patogen Tanaman*".

### **B. Rumusan masalah**

1. Bagaimana aktivitas antifungi isolat bakteri asal sarang rayap terhadap fungi patogen tanaman ?
2. Bagaimana kandungan senyawa kimia antifungi yang dihasilkan oleh isolat bakteri asal sarang rayap ?
3. Apakah jenis bakteri potensial yang menghasilkan antifungi terhadap fungi patogen tanaman ?

### **C. Tujuan penelitian**

1. Mengamati aktivitas antifungi isolat bakteri asal sarang rayap terhadap fungi patogen tanaman.
2. Menganalisis senyawa antifungi yang dihasilkan oleh bakteri isolat bakteri asal sarang rayap.

3. Menganalisis jenis bakteri potensial yang menghasilkan senyawa antifungi terhadap fungi patogen tanaman.

#### **D. Manfaat penelitian**

##### 1. Manfaat Teoritis

Penelitian ini adalah memberikan alternatif baru agen biokontrol dalam pengendalian jamur patogen tanaman, sehingga dapat menekan penggunaan fungisida yang memiliki dampak negatif terhadap lingkungan dan ekosistem.

##### 2. Manfaat Praktis

###### a. Bagi Peneliti

Penelitian ini bermanfaat untuk menambah khazanah ilmu pengetahuan di bidang pengendalian fungi penyebab penyakit tanaman.

###### b. Bagi Masyarakat

Penelitian ini memiliki potensi untuk menyelesaikan permasalahan penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur, khususnya *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Aspergillus flavus*.

c. Bagi Pemerintah

Penelitian ini memiliki potensi sebagai fungisida alami yang dapat dikembangkan dan tidak merusak lingkungan.



## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Penyakit Tanaman**

Penyakit tanaman dapat diartikan sebagai perubahan fungsi fisiologis dari suatu tanaman sehingga menyebabkan kerusakan serta menyebabkan tanaman kurang mampu bertahan dalam relung ekologi (Manners, 1993; Misaghi, 2012). Penyakit tanaman tersebut berupa perubahan abnormal fungsi fisiologi lokal maupun sistemik akibat iritasi terus menerus yang disebabkan oleh agen biotik (organisme fitopatogen) maupun agen abiotik (faktor lingkungan/ekologi). Perubahan tersebut dapat menyebabkan kerusakan jaringan secara lokal hingga kematian tanaman (Tampakaki *et al.*, 2009).

Agen abiotik seperti suhu dingin, kekurangan unsur hara, pencemaran lingkungan dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Sedangkan faktor biotik yang menyebabkan penyakit pada tanaman biasanya disebabkan oleh mikroorganisme seperti bakteri, jamur, virus, nematoda ataupun protozoa. Selain mikroorganisme tersebut tanaman parasit dan beberapa alga hijau juga berperan sebagai patogen pada tanaman. Patogen-patogen tersebut menginfeksi tanaman guna mendapatkan nutrisi yang tanaman hasilkan, sehingga kebanyakan tanaman yang terinfeksi patogen akan mati karena nutrisinya diambil oleh patogen. Patogen-patogen

tersebut dapat menginfeksi tanaman karena masuk melalui luka, lubang alami atau terbawa oleh vektor serangga (Agrios, 2005).

Dalam epidemiologi penyakit tanaman dikenal dengan adanya segitiga penyakit tanaman. Segitiga penyakit tanaman tersebut terdiri tanaman inang, patogen penyakit, dan lingkungan. Ketika faktor komponen tidak menunjang untuk terjadinya penyakit tanaman, maka penyakit tanaman tersebut tidak akan muncul (Agrios, 2005). Dalam buku *Plant Pathology* (2005) Agrios menyebutkan ada beberapa hal yang mempengaruhi komponen dalam segitiga penyakit tanaman, yaitu :

1. Tanaman inang

Beberapa faktor internal dan eksternal yang mempengaruhi epidemi penyebaran penyakit tanaman:

- a. Tingkat Resistensi Genetik Tanaman Inang

Tanaman inang yang memiliki gen resistensi spesifik akan memungkinkan tanaman inang tersebut kebal terhadap patogen jika ada patogen yang berkembang di dalam tanaman tersebut sehingga tidak menimbulkan adanya epidemi penyakit tanaman. Sedangkan tanaman yang memiliki gen resistensi parsial masih memungkinkan tanaman tersebut terinfeksi, namun untuk kecepatan infeksi akan

berbeda tergantung dengan seberapa resistensi gen tersebut serta keadaan lingkungan. Tanaman yang tidak memiliki gen resisten sangat rentan untuk terinfeksi penyakit dan menimbulkan epidemi penyakit tanaman yang baru. Epidemi penyakit tanaman ini sangat dipengaruhi oleh adanya patogen serta lingkungan yang mendukung patogen (Agrios, 2005).

b. Derajat Keseragaman Genetik Tanaman Inang

Ketika tanaman yang memiliki genetik yang seragam ditanam secara luas memungkinkan akan menyebabkan terjadinya epidemi penyakit tanaman saat salah satu individu dalam genom yang seragam tersebut terinfeksi patogen tanaman. Pada konteks keragaman genetik, tanaman yang diperbanyak secara vegetatif akan sangat mudah tertular penyakit jika tanaman induknya tidak resisten terhadap patogen tanaman (Agrios, 2005).

c. Jenis Tanaman

Penyakit tanaman musiman seperti jagung, padi, sayuran, dan kapas serta penyakit daun, bunga, atau buah pada pohon dan tanaman merambat akan berkembang lebih cepat daripada penyakit pada ranting atau batang tanaman kayu tahunan. Pada

tanaman-tanaman kayu di hutan biasanya memerlukan waktu bertahun-tahun untuk menjadi suatu epidemi penyakit tanaman (Agrios, 2005).

#### d. Umur Tanaman Inang

Umur tanaman akan mempengaruhi kerentanan dan ketahanan suatu tanaman terhadap patogen. Perubahan ketahanan tanaman seiring dengan bertambahnya umur disebut dengan ketahanan ontogeni. Pada umumnya tanaman akan menjadi sangat rentan untuk terinfeksi patogen saat awal pertumbuhan dan akan menjadi resisten ketika sudah memasuki tahapan dewasa. Meskipun umur mempengaruhi ketahanan tanaman pada patogen, namun perlu dilihat juga dari hubungan patogen-tanaman inang (Agrios, 2005).

## 2. Patogen penyakit

### a. Tingkat Virulensi

Patogen yang memiliki tingkat virulensi tinggi mampu menginfeksi inang lebih cepat, dan memproduksi inokulum yang lebih banyak sehingga dapat menyebabkan penyakit pada tanaman lebih cepat. Sebaliknya, patogen yang memiliki tingkat virulensi rendah akan lebih lambat dalam menginfeksi tanaman inang (Agrios, 2005).

b. Jumlah Inokulum patogen

Jumlah propagul patogen (bakteri, spora jamur, telur nematoda, tanaman yang terinfeksi virus, dll.) yang banyak pada daerah tanaman inang, maka dapat menyebar ke tanaman inang lain, sehingga dapat menyebabkan peningkatan kemungkinan terjadinya epidemi penyakit (Agrios, 2005).

c. Jenis Reproduksi Patogen

Patogen tanaman memiliki siklus reproduksi yang berbeda-beda, ada yang memiliki siklus reproduksi cepat dan siklus reproduksi lambat. Umumnya patogen yang memiliki siklus reproduksi cepat dan memiliki banyak keturunan akan lebih cepat menyebar dan menyebabkan epidemi penyakit, sedangkan untuk patogen tanaman yang memiliki siklus reproduksi lambat dengan sedikit keturunan biasanya menyebabkan epidemi lokal dan berjalan lambat (Agrios, 2005).

d. Ekologi Patogen

Setiap jenis patogen tanaman memiliki kondisi ekologi masing-masing yang sesuai dengan kebutuhan masing-masing patogen. Misalnya jamur vaskular, bakteri, virus, dan protozoa dapat berkembang biak secara baik di dalam tanaman, serta beberapa patogen,

seperti jamur dan tumbuhan parasit yang lebih tinggi menghasilkan inokulumnya (masing-masing spora dan biji) yang kemudian akan lebih mudah tersebar dan menjangkau daerah yang luas sehingga dapat menyebabkan epidemi. Keadaan lingkungan (ekologi) akan mempengaruhi keberlangsungan hidup patogen dan penyebarannya (Agrios, 2005).

e. Cara Penyebaran Patogen

Proses penyebaran patogen tanaman sangat bervariasi, ada yang disebarkan melalui angin, hujan, tanah (penyakit tular tanah) dan oleh vektor serangga. Patogen yang disebarkan melalui angin adalah spora jamur patogen tanaman yang menyebabkan penyakit karat dan bercak daun dan patogen yang disebarkan melalui hujan seperti patogen penyebab antraknosa. Adapun biasanya virus patogen tanaman disebarkan melalui vektor serangga seperti kutu daun, lalat putih dan serangga lainya, beberapa jenis bakteri patogen juga ditularkan melalui serangga wereng. Penyebaran patogen tanaman yang begitu cepat dan luas juga akan mempercepat terjadinya epidemi penyakit tanaman (Agrios, 2005).

### 3. Lingkungan

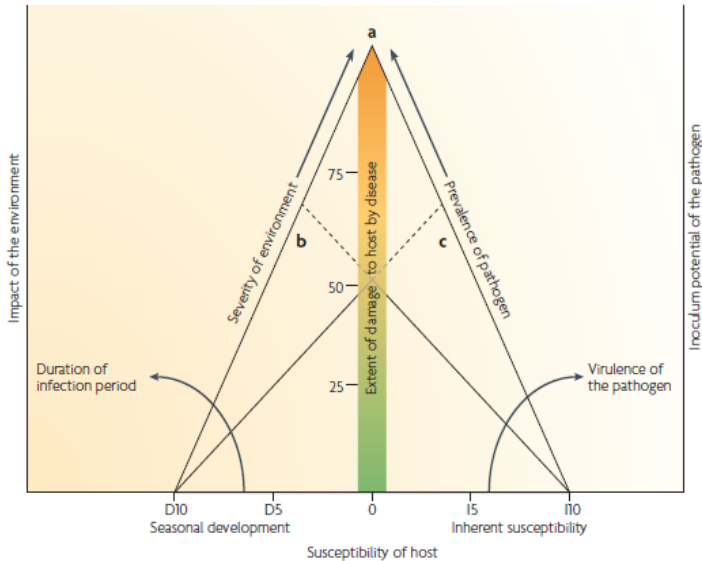
#### a. Kelembaban

Kelembaban berpengaruh pada proses pertumbuhan dan perkembangan patogen tanaman yang ada. Kelembaban yang tinggi dan berkepanjangan menjadi faktor yang dominan dalam perkembangan penyakit yang disebabkan oleh jamur (penyakit bulai, hawar). Bakteri (bercak daun, busuk lunak, hawar) dan beberapa nematoda. Hal ini dikarenakan kelembaban mempengaruhi sporulasi jamur dan multiplikasi bakteri. Oleh karena itu, kelembaban tinggi yang berkepanjangan akan memudahkan munculnya berbagai epidemi penyakit tanaman (Agrios, 2005).

#### b. Suhu atau temperatur

Suhu yang lebih tinggi atau yang lebih rendah dari suhu optimal suatu tanaman dapat mempengaruhi ketahanan parsial suatu tanaman, bahkan lebih buruknya dapat mengurangi atau menghilangkan ketahanan spesifik suatu tanaman. Tanaman yang tumbuh pada suhu yang tidak sesuai akan menjadi stress dan lebih rentan terserang penyakit ketika patogen penyakitnya lebih kuat. Suhu juga berpengaruh pada tahap patogenitas setiap patogen, misalnya pada tahap sporulasi jamur, penetasan telur,

penetrasi inang, serta pertumbuhan patogen. Ketika suhu yang ada menguntungkan patogen, maka akan lebih mudah terjadi epidemi penyakit tanaman (Agrios, 2005).



Gambar 2. 1 Skema Segitiga Penyakit (Scholthof, 2007)

Beberapa faktor tersebut yang nantinya akan mempengaruhi dalam perkembangan dan penyebaran terjadinya penyakit pada tanaman. Selain faktor tersebut, praktik budidaya yang dilakukan oleh manusia serta tindakan pengendalian penyakit juga akan berpengaruh pada proses penyebaran penyakit tanaman. Banyak aktivitas manusia memiliki efek langsung atau tidak langsung pada epidemi



penyakit tanaman, beberapa di antaranya mendukung dan beberapa mengurangi frekuensi dan laju epidemi, diantaranya adalah pemilihan dan persiapan lokasi budidaya, pemilihan bahan propagatif ( meliputi perbanyak tanaman, pemilihan benih dsb), praktek budidaya, tindakan pengendalian penyakit yang dilakukan, dan introduksi patogen baru (ketidaksengajaan terbawanya patogen dari luar daerah ke dalam daerah baru) (Agrios, 2005).

### **B. Fungi Patogen Tanaman**

Fungi patogen merupakan fungi yang dapat menyebabkan penyakit pada tanaman. Dalam proses untuk menyebabkan penyakit pada tanaman, fungi patogen memiliki cara yang beragam. Fungi patogen ada yang bersifat nekrotrof (menginfeksi dan membunuh tanaman inang, kemudian jamur tersebut hidup pada material mati) dan ada yang bersifat biotrof (menjajah jaringan yang hidup). Dalam proses invasi, jamur patogen juga mengeluarkan toksin yang kemudian membunuh jaringan tanaman, atau mengeluarkan zat efektor sehingga jamur dapat memanipulasi metabolisme tanaman untuk lebih mendukung perkembangan patogen (Doehlemann *et al.*, 2017).

Fungi Patogen tanaman memberikan kerugian yang cukup besar dalam sektor pertanian. Hal ini dikarenakan infeksi yang terjadi pada tanaman pertanian menurunkan kualitas tanaman

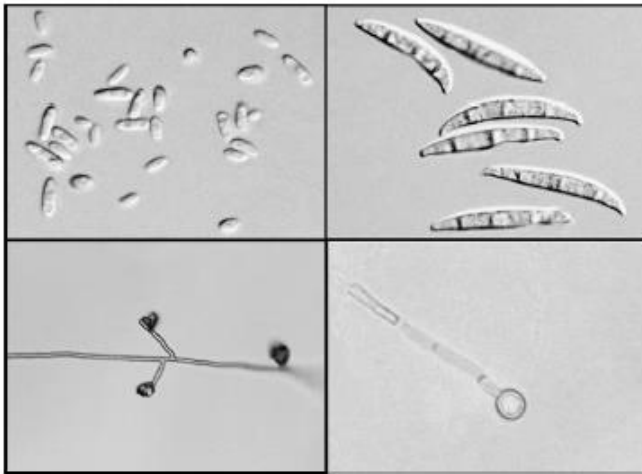
pertanian, buah-buahan dan berbagai jenis sayuran, dll sehingga berdampak pada kegiatan sosial ekonomi masyarakat (Doehlemann *et al.*, 2017; Yang, *et al.*, 2017). Ada banyak jenis fungi patogen yang menyerang tanaman secara luas, diantaranya adalah *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Aspergillus flavus*.

1. *Fusarium oxysporum*

*Fusarium oxysporum* merupakan salah satu spesies dari genus *Fusarium* yang paling banyak menyebabkan penyakit layu pada tanaman. *Fusarium oxysporum* dapat menginfeksi banyak tanaman inang, seperti sayuran, tanaman buah, tanaman perkebunan, bunga dll. *Fusarium oxysporum* menyebabkan layu vaskular pada 100 jenis tanaman lebih, termasuk diantaranya adalah pisang, palm, tomat, tebu, kentang, kacang-kacangan dan palem serta ada juga yang dapat menginfeksi manusia (Kant, *et al.*, 2017; Zhang & Ma, 2017).

Secara umum *Fusarium oxysporum* memiliki karakter morfologi miselium bertekstur halus berwarna putih sampai merah muda (terkadang dengan semburat ungu) dan memiliki tiga jenis spora yaitu, makrokonidia, mikrokonidia dan klamidospora. Makrokonidia *Fusarium oxysporum* berbentuk *fusoid-subulate* dengan kedua ujung yang meruncing, memiliki dasar mikrokonidia berbentuk

pediselata dan tersimpan pada konidiofor bercabang. Makrokonidia *Fusarium oxysporum* memiliki ukuran 15-37,5  $\mu\text{m}$   $\times$  2,5-4  $\mu\text{m}$  dengan 3-5 septa, namun makrokonidia dengan tiga septa lebih umum dijumpai. Adapun mikrokonidia *Fusarium oxysporum* tersimpan pada phialides sederhana yang tumbuh secara lateral, berbentuk oval-ellipsoid (lurus hingga melengkung). Ukuran mikrokonidia sekitar 2,5-15  $\mu$   $\times$  2-3  $\mu$  dengan tidak memiliki septa atau dengan septa tunggal. Pada *Fusarium oxysporum*, Klamidospora umumnya soliter, namun terkadang berpasangan atau berantai dengan dinding spora halus maupun kasar. Klamidospora terbentuk di bagian ujung atau dasar yang berselingan (Arroyo, *et al.*, 2009; Liu, *et al.*, 2014; Nirmaladevi, *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; González, *et al.*, 2019).



Gambar 2. 2 Karakter Morfologi *Fusarium oxysporum* (Fourie, *et al.*, 2011)

Jamur patogen *Fusarium oxysporum* dapat menyebar secara aktif dan pasif. Penyebaran jamur patogen secara aktif terjadi antar tanaman melalui akar. Tanaman terinfeksi yang kemudian mati akan menyebarkan spora jamur ke tanah melalui akar yang membusuk. Inokulum spora jamur yang ada pada tanah kemudian menyebar ke akar-akar sekunder dan tersier, sehingga dapat menyebar secara luas ke tanaman-tanaman sehat di sekitar zona tanaman terinfeksi. Penyebaran aktif dapat dikontrol dengan mengkarantina tanaman yang sakit dan tanaman-tanaman yang ada disekitarnya (Pegg, *et al.*, 2019).

Adapun penyebaran spora fungi secara pasif dapat terjadi melalui kegiatan antropogenik dan alami, seperti hanyutnya spora melalui air hujan atau genangan air, melalui irigasi air dari daerah yang terkontaminasi jamur patogen, melalui debu, melalui aktivitas manusia (melalui tanah yang terbawa pada alat pertanian), kultur tanaman secara vegetatif dan melalui hewan atau serangga di sekitar tanaman yang terinfeksi (Dita, *et al.*, 2018; Pegg, *et al.*, 2019).

Gejala yang muncul pada tanaman yang terinfeksi jamur patogen *Fusarium oxysporum* adalah timbulnya perubahan warna daun tua menjadi kekuningan, layu, kemudian mengering. Kondisi ini kemudian menyebar ke daun-daun muda lalu menyebabkan tanaman mati (Yuniarti, 2010). Jamur *Fusarium oxysporum* menginfeksi jaringan vaskuler tanaman melalui pangkal batang tanaman. Pada awalnya pangkal batang yang menempel tanah akan membusuk dan menjalar ke sistem perakaran tanaman. Kemudian pangkal batang ini akan berubah menjadi putih keabu-abuan dan menyimpan spora aktif jamur *Fusarium oxysporum*. Spora *Fusarium oxysporum* dapat bertahan sangat lama dan dapat tumbuh baik pada rentang suhu 24-27° C. Pada daerah yang memiliki sistem

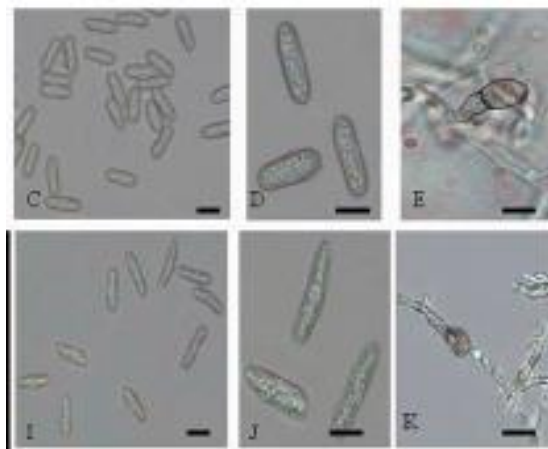
drainase/pengairan yang buruk, menyebabkan penyakit ini berkembang dengan baik (Tarigan & Wiryanta, 2003).

## 2. *Colletotrichum gloeosporioides*

*Colletotrichum gloeosporioides* merupakan salah satu jenis jamur patogen yang menyebabkan penyakit antraknosa pada berbagai jenis tanaman. *Colletotrichum gloeosporioides* dapat menyerang tanaman coklat, sorgum, jambu mete, mangga, pepaya, alpukat, jeruk, serta tanaman loquat (Nair, 2010; Tian, *et al.*, 2011; Madhusudhana, 2019). Gejala umum yang terlihat pada tanaman yang terinfeksi *Colletotrichum gloeosporioides* adalah munculnya hawar daun atau timbulnya bercak daun yang tidak beraturan (Nair, 2010). Selain itu, *Colletotrichum gloeosporioides* yang menyerang buah pada tanaman akan menyebabkan buah membusuk, buah jatuh prematur, buah menjadi kehilangan berat, rasa asam yang tinggi dan menyebabkan kualitas buah menjadi menurun (Connor, *et al.*, 2014).

Jamur *Colletotrichum gloeosporioides* pada umumnya memiliki karakter morfologi yaitu spora berbentuk silindris dengan ujung yang tumpul serta memiliki ukuran sekitar 16,1 x 5,6  $\mu\text{m}$ . Jamur *Colletotrichum gloeosporioides* memiliki miselium yang terdiri dari beberapa septa, aservulus dan stroma berbentuk hemi spirakel dengan

ukuran sekitar 70-120  $\mu\text{m}$ , konidia terletak pada ujung konidiofor (Singh, *et al.*, 2006). Adapun konidia yang dimiliki oleh *Colletotrichum gloeosporioides* adalah konidia hialin silindris dengan ujung tumpul yang membulat, berukuran 9-24 x 3-6  $\mu\text{m}$ , tidak memiliki sekat serta berinti satu. Sedangkan konidiofor *Colletotrichum gloeosporioides* berbentuk fialid agak silindris, hialin, dan berwarna kecoklatan (Semangun, 2008).



Gambar 2. 3 Karakter Morfologi *Colletotrichum gloeosporioides* (Sakinah, *et al.*, 2014)

Gejala yang muncul pada buah tanaman yang terinfeksi *Colletotrichum gloeosporioides* biasanya dimulai dengan munculnya bintik-bintik kehitaman pada buah tanaman. Setelah muncul bintik-bintik tersebut kemudian buah akan mengkerut, kering, busuk lalu jatuh (Rusli & Zulpadli,

1997). Selain itu, ranting tanaman yang terinfeksi *Colletotrichum gloeosporioides* juga menunjukkan gejala berupa munculnya bintik kehitaman pada ranting. Setelah muncul bintik-bintik tersebut kemudian ranting akan mengering dan mati. Selanjutnya spora yang terbentuk pada tanaman yang sudah terinfeksi kemudian akan menyebar dengan cepat ke tanaman lain (Singh, 1998).

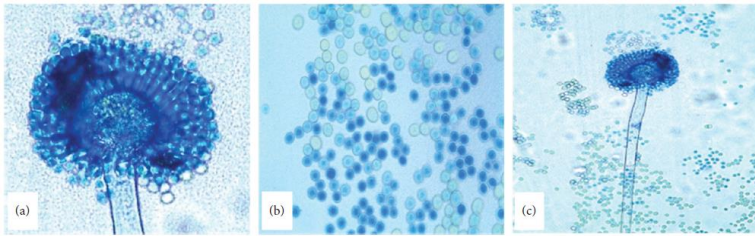
Jamur *Colletotrichum gloeosporioides* menginfeksi tanaman dengan cara masuk melalui lubang alami yang dimiliki tanaman dan langsung menembus kutikula. Selama proses infeksi, jamur *Colletotrichum gloeosporioides* mensintesis enzim poligalakturonase, selulase, pektin metil esterase dan racun. Senyawa-senyawa yang dihasilkan tersebut akan memberikan kerusakan awal pada sel-sel tanaman. Kerusakan yang terjadi pada sel-sel tanaman tersebut akan menyebabkan tanaman mati (Pawirosoemardjo & Suwanto, 1996).

### 3. *Aspergillus flavus*

*Aspergillus flavus* merupakan genus fungi patogen oportunistik yang banyak menyebabkan penyakit pada tanaman seperti, tomat, anggur, jagung, *Dioscorea rotundata* jenis umbi putih, kacang-kacangan, serta biji kapas (Amaike & Keller, 2011; Tijjani *et al.*, 2014a; Gwa & Akombo, 2016; Ullah, *et al.*, 2019; Guffar *et al.*, 2020).



Karakter morfologi yang dimiliki *Aspergillus flavus* adalah memiliki miselium berwarna putih pada awal inokulasi, pada hari ketiga akan terjadi perubahan warna menjadi hijau-kekuningan dengan margin keputihan karena proses sporulasi. Fungi *aspergillus flavus* juga menghasilkan eksudat yang berwarna coklat atau tidak berwarna, dan *reverse side* dari koloni *Aspergillus flavus* berwarna pucat. Konidiofor fungi *Aspergillus flavus* berdinding tebal yang tidak berwarna, halus, atau kasar, tidak bercabang, tidak bersekat, serta memiliki konidia yang berbentuk radial sampai elips, sedangkan vesikel pada fungi *Aspergillus flavus* berbentuk globose sampai subglobose. Phialides dikemas secara longgar, memancar ke segala arah dari metula (Vlajkov, *et al.*, 2021). Berdasarkan ukuran sklerotia, *Aspergillus flavus* terbagi menjadi dua strain, yaitu strain L yang memiliki ukuran sklerotia yang luas dan strain S yang memiliki ukuran sklerotia kecil (Thathana, *et al.*, 2017)



Gambar 2. 4 Morfologi mikroskopis *Aspergillus flavus*. (a) biseriate dengan phialides memancar dari semua sisi; (b) konidia berbentuk bulat dengan berbagai ukuran yang agak kasar; (c) dan konidiofor tidak bercabang yang tidak bersekat, kasar, dan hialin (Okayo, *et al.*, 2020).

Gejala yang muncul pada tanaman yang terinfeksi *Aspergillus flavus* biasanya ditunjukkan dengan adanya klorosis (daun menguning), layu pada tanaman yang kemudian mengering, serta munculnya spora kuning atau kehijauan pada tanaman. Biji-bijian atau buah yang terinfeksi oleh *Aspergillus flavus* menjadi busuk dengan spora kuning atau kehijauan, serta dapat menyebabkan pengkerdilan pada bibit dengan ukuran daun mengecil, pembusukan mahkota yang ditutupi dengan konidia hitam (Mohammed & Chala, 2014).

### C. Biokontrol

Biokontrol merupakan aplikasi agen biologis yang digunakan untuk mencegah atau melawan agen patogen yang menyebabkan penyakit. Penggunaan agen biologi sebagai kontrol patogen bertujuan untuk meminimalisir penggunaan

bahan kimia yang dapat mencemari lingkungan (O'Brien, 2017). Ada tiga komponen penting dalam pengembangan biokontrol yaitu agen biokontrol yang mempunyai efektif tinggi, produksi dan efektivitas serta pengembangan yang tinggi dari biokontrol, serta bioprotektan yang memiliki keunggulan tinggi terhadap mikroflora lain (Harman, *et al.*, 1991).

Diversitas penyakit batang, daun, bunga, dan buah pada tanaman disebabkan oleh berbagai macam patogen penyakit, sehingga memerlukan agen biokontrol antagonis yang bervariasi pula. Beberapa agen biokontrol yang berupa bakteri dan jamur dapat menghasilkan berbagai jenis metabolit sekunder dan antibiotik (termasuk biosurfaktan seperti lipopeptida yang memiliki sifat seperti antibiotik). Produksi antibiotik ini memberikan keunggulan yang kompetitif dalam menekan pertumbuhan atau menghilangkan patogen penyakit. Selain itu bakteri dan jamur agen biokontrol juga dapat mensekresikan berbagai macam jenis enzim pendegradasi polisakarida, seperti kitinase, glukonase, protease, dan selulase. Enzim-enzim ini dapat mendegradasi dinding sel hifa jamur, klamidospora, spora, konidia, sporangia, dan zoospora sehingga menyebabkan lisis dan patogen tanaman menjadi mati (O'Brien, 2017).

Agen biokontrol seperti *Cylindrosporium concentricum* dan *Dicyma pulvinata* bersifat hiperparasit terhadap patogen kerak hitam (*Phyllachora huberi*) pada pohon karet, sehingga pertumbuhan patogen dapat ditekan (Fisher, *et al.*,1999). Bakteri *Bacillus pantothenicus*, *Bacillus brevis*, dan *Bacillus sp.* dapat menjadi agen biokontrol terhadap jamur *Rhizoctonia solani* dengan menghasilkan surfaktin (Yuliar, 2008). Selaras dengan penelitian diatas, Masrukhin *et al.*, (2021) menjelaskan bahwa *Bacillus siamensis* C3.8 yang diisolasi dari media tanam jamur merang dapat berfungsi sebagai biokontrol fungi patogen tanaman (*Cercospora lactucae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*) Sedangkan menurut Purnomo dan Mukarlina, (2017) menyebutkan bahwa bakteri *Streptomyces sp.* dapat menjadi agen biokontrol terhadap *Phytophthora palmivora* (penyebab penyakit busuk buah pada tanaman kakao).

#### **D. Sarang Rayap**

Koloni rayap biasanya ditemukan dalam suatu struktur pelindung yang disebut sarang rayap. Selain sebagai pelindung internal koloni rayap, sarang rayap ini juga berfungsi sebagai kontrol respon terhadap lingkungan rayap (Korb, 2010). Beberapa jenis rayap yang hidup di daerah yang panas akan membentuk sarang seperti gundukan dengan ventilasi seperti cerobong untuk mengatur pertukaran udara (Sekhar &

Arumugam, 2019). Pori-pori yang ada pada sarang rayap bertujuan untuk mengatur kelembaban, aliran udara, dan penyebaran feromon (Korb, 2003).

Secara garis besar, tipe sarang rayap terbagi menjadi 3 yaitu, *subterranean*, *epigeal*, dan *arboreal*. Tipe *subterranean* merupakan tipe sarang rayap yang sepenuhnya ada di dalam tanah, tipe *epigeal* merupakan tipe sarang rayap yang menonjol ke atas tanah, biasanya membuat gundukan (mound), sedangkan tipe *arboreal* merupakan tipe sarang rayap yang menempel ke batang atau cabang pepohonan, namun biasanya tetap terhubung ke tanah (Noirot, & Darlington, 2000).

Sarang rayap memiliki tingkat keanekaragaman filum bakteri yang bervariasi, seperti filum Actinobacteria, Bacteroidetes, Cyanobacteria, Chlorobi, Deinococcus-Thermus, Firmicutes, Spirochaetes, Proteobacteria, dan Synergistetes (Manjula, *et al.*, 2015).

#### **E. Ekstraksi Metabolit Sekunder**

Ekstraksi merupakan proses pemisahan suatu zat terlarut pada suatu sampel menggunakan pelarut yang sesuai (Leba, 2017). Ekstraksi bertujuan untuk mengisolasi senyawa yang ada pada sampel sehingga terpisah dari partikel yang mengganggu pada proses analisis (Harris & Lucy, 2016). Senyawa target biasanya sesuai dengan pelarut yang

digunakan (Tissue, 2013). Proses ekstraksi senyawa berdasarkan sifat *“like dissolves like”*, artinya suatu senyawa terlarut pada sampel akan larut pada pelarut yang memiliki tingkat kepolaran mirip dengan senyawa tersebut (Harris & Lucy, 2016). Banyak metode yang digunakan dalam proses ekstraksi suatu senyawa, diantaranya adalah ekstraksi cair-cair (Tissue, 2013).

Ekstraksi cair-cair merupakan suatu proses ekstraksi senyawa dari sampel cair secara selektif menggunakan pelarut organik yang memiliki kepolaran sama dan tidak merusak senyawa target yang diekstraksi (Kim, *et al.*, 2012; Harris & Lucy, 2016). Ekstraksi cair-cair juga dapat disebut dengan ekstraksi pelarut karena memisahkan suatu senyawa kimia dalam campuran menggunakan pelarut yang memiliki tingkat kelarutan yang sesuai dengan senyawa target (Zhang & Hu, 2013).

Secara sederhana, ekstraksi cair-cair dapat dilakukan menggunakan corong pisah (*separatory funnel*). Corong pisah diisi dengan larutan senyawa target dan pelarut organik, kemudian dikocok sehingga terbentuk dua fase, yaitu fase organik dan fase cair. Senyawa kimia akan terpisah pada kedua fase tersebut sesuai dengan tingkat kepolaran senyawa target dan pelarut organik (Depkes RI, 2000).

Harborne (1987) menjelaskan bahwa untuk mendapatkan ekstrak dengan hasil yang optimum dapat dilakukan dengan cara melakukan ekstraksi bertingkat. Proses ekstraksi dapat dimulai dengan ekstraksi menggunakan senyawa non polar, kemudian menggunakan senyawa semi polar, dan terakhir menggunakan senyawa polar. Pelarut non polar dapat menarik senyawa steroid, lemak dan minyak atsiri; pelarut semi polar dapat menarik senyawa alkaloid, kuinon, kumarin; dan pelarut polar dapat menarik senyawa tanin, saponin dan glikosida. Ekstraksi bertingkat ini akan memberikan hasil senyawa yang lebih spesifik dan kompleks.

Adapun tingkat kepolaran suatu pelarut organik ditampilkan pada tabel berikut ini:

Tabel 2.1 Kepolaran Pelarut Organik (Snyder, 1974)

Pelarut Organik	Indeks Kepolaran
Water (dH <sub>2</sub> O)	9,0
Methanol (MeOH)	6,6
Ethanol (EtOH)	5,2
Acetone (DMK)	5,1
Ethyl acetate (EtOAc)	4,4
Dichloromethane (DCM)	3,7
Hexane (Hex)	0

## **F. *Gas Chromatography Mass Spectrometry (GC-MS)***

*Gas Chromatography Mass Spectrometry* merupakan suatu alat analisis kimia yang terdiri dari gabungan dua alat yaitu, kromatografi gas dan spektrometri massa. GC-MS dapat mengukur suatu senyawa pada rentang 10 m/z hingga 700 m/z (Fessenden,1982). Pada prinsip kromatografi gas (GC) akan memisahkan suatu senyawa berdasarkan indeks retensinya, sehingga setiap senyawa memiliki indeks retensinya masing-masing. Kemudian spektrofotometri massa (MS) akan mengfragmentasi senyawa-senyawa tersebut sesuai karakteristik massa senyawa. Pola spektrum massa yang terbentuk merupakan sidik jari molekuler dari suatu senyawa. Penggabungan dari indeks retensi dan pola spektrum ini akan membuat suatu senyawa dapat dikenali (Clement and Taguchi, 1991).

GC-MS memiliki tujuh instrumen penting yaitu gas pembawa, flow regulator, injection port, kolom oven, kolom detektor, komputer dan output (hasil). Semua instrumen tersebut memiliki fungsi yang penting untuk mendapatkan analisis yang bagus, misalnya gas pembawa. Gas pembawa ini diperlukan untuk mengangkut senyawa melalui kolom ke detektor. Kemurnian dan laju aliran gas pembawa penting untuk mendapatkan hasil kromatogram yang bagus. Jenis-jenis gas pembawa yang sering digunakan adalah helium, hidrogen,



dan nitrogen. Ada tiga model injeksi dalam GC-MS yaitu model *split*, *splitless*, dan *direct* (langsung pada kolom). Tiga model ini disesuaikan dengan jenis sampel analisis sampel sehingga dapat menghasilkan kromatogram yang bagus (Shimadzu, 2020).

Kolom dan detektor merupakan bagian yang instrumen yang penting dalam GC-MS. Kolom berfungsi untuk memisahkan senyawa-senyawa yang ada pada sampel. Jenis kolom yang digunakan ada dua yaitu, pertama adalah kolom yang dikemas (*packed columns*). Kolom diisi dengan material padat berpori atau material padat berlapis cairan. Material padat berfungsi sebagai fase diam. Kedua adalah kolom tubular terbuka (*kapiler*) yang terdiri dari tiga jenis kolom yaitu, *Wall-Coated Open Tubular (WCOT)*, *Porous-Layer Open Tubular (PLOT)* dan *Support-Coated Open Tubular (SCOT)*. Fase diam terletak pada dinding kolom (Shimadzu, 2020).

Detektor GC-MS digunakan untuk menentukan keberadaan dan jumlah senyawa dalam suatu campuran. Data senyawa tersebut diubah menjadi sinyal dan diplot terhadap waktu retensi untuk mendapatkan suatu kromatogram. Area puncak atau ketinggian berkorelasi dengan jumlah senyawa yang ada dalam sampel sedangkan waktu retensi berfungsi untuk membedakan identitas senyawa. Ada enam detektor yang biasa digunakan dalam deteksi senyawa pada GC yaitu, *thermal*

*conductivity detector* (TCD), *flame ionization detector* (FID), *electron capture detector* (ECD), *flame photometric detector* (FPD), *flame thermionic detector* (FTD) dan *sulfur chemiluminescence detector* (SCD) (Shimadzu, 2020).

#### **G. Polymerase chain reaction (PCR)**

*Polymerase chain reaction* (PCR) merupakan metode *in vitro* untuk menggandakan fragmen DNA spesifik dengan sekuen dan panjang yang telah ditentukan dalam waktu cepat (Surzycki, 2000). Penggandaan DNA terjadi secara enzimatik menggunakan dua primer yang komplementer dengan ujung dari kedua rantai sekuen target. Primer PCR memungkinkan fragmen DNA disalin sesuai potongan yang diinginkan (Anggereini, 2008).

Komponen-komponen yang diperlukan untuk melakukan PCR antara lain template DNA, primer, enzim taq polymerase, nukleotida (dNTP), dan buffer polimerase. Template DNA merupakan DNA yang ingin diamplifikasi. Jumlah template DNA yang dibutuhkan berkisar antara 0,001-1 ng untuk DNA plasmid dan 0,1-1 ng untuk DNA genom. Primer merupakan untai DNA pendek yang menempel pada fragmen template DNA, serta sebagai tempat awal terjadinya replikasi, dan sebagai pembatas fragmen DNA target. Salah satu faktor yang sangat mempengaruhi keberhasilan PCR adalah primer, sehingga komposisi, ukuran, dan homologi primer terhadap

template DNA harus ditentukan dengan baik agar mendapatkan hasil amplifikasi sesuai harapan (Ubaidillah & Sutrisno, 2012).

Enzim Taq polimerase berfungsi sebagai katalis replikasi DNA. Enzim ini biasanya digunakan dalam jumlah yang sangat sedikit. Penggunaan yang terlalu rendah atau terlalu banyak biasanya akan menimbulkan berbagai masalah pada hasil PCR. Penggunaan berlebihan kemungkinan akan menyebabkan teramplifikasinya DNA pada sekuen yang bukan target, sehingga produknya non-spesifik. Larutan dNTP (mengandung dATP, dGTP, dCTP, dan dTTP) perlu ditambahkan agar DNA polimerase dapat membentuk kompleks rantai baru yang komplementer. Reaksi PCR membutuhkan suatu *buffer* yang mengandung  $MgCl_2$  karena aktivitas enzim polimerase dipengaruhi oleh konsentrasi ion  $Mg^{2+}$ . Ion  $Mg^{2+}$  berfungsi menstimulasi aktivitas enzim secara maksimal. Larutan *buffer* akan menjamin pH dari larutan (Green & Sambrook, 2012).

Teknik PCR melibatkan tiga tahap yaitu denaturation, annealing, dan elongation atau extension (Surzycki, 2000). Namun sudah banyak penelitian yang memodifikasi tahapan tersebut dengan menambahkan tahap *pre-denaturation* dan *final extension* seperti pada (Giacomazzi *et al.*, 2004; Sebastião, *et al.*, 2015; Yuan, *et al.*, 2016; Hou, *et al.*, 2018). Pada tahap pertama, molekul DNA dipisahkan menjadi dua untai tunggal

(denaturasi). Suhu yang diperlukan untuk proses denaturasi biasanya berkisar antara 94-95° C dan waktu yang diperlukan dalam proses ini sekitar 30 detik untuk suhu 95° C dan memerlukan 15 detik untuk suhu 97° C. Namun demikian, untuk memastikan bahwa molekul DNA target benar-benar terurai biasanya dilakukan predenaturation selama 3-5 menit (Ubaidillah & Sutrisno, 2012).

Tahapan berikutnya adalah proses penempelan primer (*annealing*) pada template DNA yang telah terurai menjadi untaian tunggal. Proses ini terjadi pada suhu antara 36-72° C (Ubaidillah & Sutrisno, 2012). Dale (2012), menyatakan bahwa suhu untuk annealing berkisar antara 40-60° C, namun jika dalam template DNA tersebut mengandung GC content tinggi maka suhunya dinaikkan hingga 72° C. Banyak sekali faktor yang harus dipertimbangkan untuk menentukan suhu annealing yang tepat saat proses amplifikasi. Selanjutnya tahap pemanjangan (*elongation*) yaitu tahap dimana primer yang membentuk untaian DNA sesuai dengan urutan template DNA yang sudah terbelah dengan bantuan enzim Taq polymerase. Proses ini biasanya berlangsung pada suhu 72° C (Dale, 2002).

Produk pertama dari hasil amplifikasi akan berfungsi sebagai cetakan untuk siklus kedua, demikian seterusnya. Biasanya jumlah siklus yang digunakan dalam amplifikasi DNA

bervariasi tergantung pada jumlah template DNA dan juga produk akhir yang diharapkan. Biasanya dengan 25-35 siklus sudah cukup untuk menghasilkan produk yang optimal. Apabila siklus denaturasi, penempelan primer (*annealing*) dan pemanjangan (*elongation*) diulang-ulang maka DNA target akan dilipatgandakan. Produk utama yang dihasilkan adalah segmen DNA untai ganda yang panjangnya ditentukan oleh jarak antara kedua primer (Ubaidillah & Sutrisno, 2012).

#### **H. Sekuensing DNA**

Sekuensing DNA adalah proses atau teknik penentuan urutan basa nukleotida pada suatu molekul DNA. Urutan tersebut dikenal sebagai sekuen DNA, yang merupakan informasi paling mendasar suatu gen atau genom karena mengandung instruksi yang dibutuhkan untuk pembentukan tubuh makhluk hidup (Dale, 2002).

Prosedur yang paling cepat dan efisien untuk sekuensing DNA ditemukan pada tahun 1970-an. Ada dua prosedur yang diterbitkan hampir bersamaan pada tahun 1977 yaitu, *chain termination method* (Sanger *et al.*, 1977) dan pemecahan secara kimia (Maxam & Gilbert, 1977). *Chain Termination Sequencing* standar menggunakan label radioaktif dengan pola bayangan pada polyacrylamide gel yang divisualisasi menggunakan autoradiografi (Dale, 2002). Walaupun sudah ada metode sekuensing terbaru seperti NGS (next generation

sequencing), saat ini metode yang masih populer digunakan adalah metode Sanger *et al.* (1977).

Bahan yang digunakan untuk melakukan sekuensing adalah molekul untai tunggal DNA. Siklus sekuensing (*Thermal cycle sequencing*) dilakukan mirip dengan siklus PCR (Sanger *et al.*, 1977). Tahap pertama adalah penempelan primer pada untai DNA dengan sekuen yang komplementer dengan primer. Primer yang digunakan pada saat sekuensing sama dengan primer PCR. Reaksi sintesis untai yang dikatalisa oleh enzim DNA polymerase dan memerlukan dideoxyribonucleotide triphosphates (ddNTPs) sebagai substrat. ddNTPS digunakan karena memiliki unsur H pada rantai karbon-3 dari gula ribosanya. Fungsi dari ddNTPs yaitu sebagai penghenti rantai. Reaksi ini akan berlangsung terus menerus sampai semua nukleotida teramplifikasi (Ubaidillah & Sutrisno, 2012).

### ***I. Unity of Science (UoS)***

Kajian penelitian ini akan menggunakan isolat bakteri yang berasal dari sarang rayap. Sarang rayap di dalam Al-quran tidak disebutkan secara gamblang, namun dalam surat As-Saba' ayat 14 Allah menyebutkan tentang rayap. Adapun lafadz firman Allah dalam Surat As-Saba' ayat 14 adalah sebagai berikut:

فَلَمَّا قَضَيْنَا عَلَيْهِ الْمَوْتَ مَا دَلَّهُمْ عَلَى مَوْتِهِ إِلَّا دَابَّةُ الْأَرْضِ  
تَأْكُلُ مِنْسَأَتَهُ فَلَمَّا خَرَّ تَبَيَّنَتِ الْجِنُّ أَنْ لَوْ كَانُوا يَعْلَمُونَ الْغَيْبَ مَا  
لَبِئْسُوا فِي الْعَذَابِ الْمُهِينِ

Artinya: Maka, ketika telah Kami tetapkan kematian (Sulaiman), tidak ada yang menunjukkan kepada mereka kematiannya itu, kecuali rayap yang memakan tongkatnya. Ketika dia telah tersungkur, jin menyadari bahwa sekiranya mengetahui yang gaib, tentu mereka tidak berada dalam siksa yang menghina (Saba' [34]:14) (Kemenag RI, 2011).

Ayat ini menjelaskan bahwa ketika ajal Nabi Sulaiman sudah dekat, beliau duduk di singgasananya dan bertumpu pada tongkatnya. Ketika beliau meninggal dunia, tak ada seorangpun yang tahu bahwa beliau sudah meninggal baik para pengawal, penghuni istana, maupun jin-jin yang selalu bekerja keras melaksanakan perintahnya. Ketika Nabi Sulaiman jatuh tersungkur karena tongkatnya yang rapuh dimakan rayap tidak dapat menopang tubuh Nabi Sulaiman, barulah para pelayan, para jin, par penghuni istana mengetahui kalau Nabi Sulaiman telah meninggal dunia. Dalam ayat ini, Allah tidak menjelaskan berapa lama Nabi Sulaiman tersebut

bertumpu pada tingkatnya, sebagian mufassir ada yang mengatakan sekitar satu tahun (Departemen Agama RI, 2010).

## **J. Kajian Penelitian Terdahulu**

Ada banyak penelitian terdahulu yang mendukung penelitian tentang isolat bakteri yang dapat berfungsi sebagai agen biokontrol terhadap fungi patogen tanaman, diantaranya sebagai berikut:

1. Sujada *et al.*, (2014) telah melakukan penelitian dengan judul artikel "*Termite Nests as an Abundant Source of Cultivable Actinobacteria for Biotechnological Purposes*", dalam artikel tersebut Sujada *et al.*, (2014) menyebutkan bahwa sarang rayap merupakan sumber yang melimpah dari strain bioaktif actinobacteria yang dapat dibudidayakan untuk kebutuhan bioteknologi. Penelitian Sujada *et al.*, (2014) ini juga menguji kemampuan antimikroba dari strain-strain yang ditemukan. Isolat yang paling potensial dalam penelitian ini adalah isolat CMU-NKS-3 yang setelah dilakukan identifikasi dengan gen 16S rRNA dekat dengan *Streptomyces padanus*.
2. Krishanti *et al.*, (2018) telah melakukan penelitian dengan judul artikel "*Antimicrobial Production by an Actinomycetes Isolated from the Termite Nest*", dalam penelitian tersebut Krishanti *et al.*, (2018) mengisolasi



bakteri dari sarang *Nasutitermes sp.* di Cagar Alam Pananjung Pangandaran. Hasil penelitian menunjukkan bahwa beberapa isolat aktif melawan jamur dan bakteri. Isolat Pn-TN2 menunjukkan tingkat penghambatan antibakteri dan penghambatan antijamur tertinggi dengan nilai Inhibition Rate lebih dari 80%. Oleh morfologi dan analisis urutan gen 16S rRNA sangat menyarankan bahwa Isolat Pn-TN2 tergolong *Streptomyces prasinopilosus*.

3. Devi *et al.*, (2018) telah melakukan penelitian dengan judul artikel "*Isolation and Molecular Characterization of Bacterial Strains with Antifungal Activity from Termite Mound Soil*", dalam penelitian tersebut Devi *et al.*, (2018) bertujuan untuk mencari strain bakteri yang memiliki aktivitas antifungi dari tanah sarang rayap. Dari isolat yang didapatkan ada empat isolat efisien dengan kode NTS 65, BTS 14, BTS 16 dan NTS 20 yang setelah diidentifikasi dengan gen 16S rRNA didapatkan bahwa isolat tersebut memiliki similaritas tinggi dengan *Staphylococcus saprophyticus*, *Bacillus methylotrophicus* dan *Bacillus sp.*
4. Jangir *et al.*, (2018) telah melakukan penelitian dengan judul artikel "*Biocontrol mechanisms of Bacillus sp., isolated from tomato rhizosphere, against Fusarium*

*oxysporum f. sp. lycopersici*”, dalam penelitian itu Jangir *et al.*, (2018) melakukan penelitian tentang kemampuan antagonis isolat *Bacillus sp.* yang berasal dari rizosfer tomat terhadap *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. Dari sekian banyak isolat, isolat B44, diidentifikasi sebagai *Bacillus sp.* berdasarkan ribotyping (Accession no. MG779639), yang efektif menunjukkan aktivitas antijamur. Strain tersebut mampu menghasilkan enzim hidrolitik seperti  $\beta$ -1,3-glukanase, protease, dan kitinase, metabolit volatil dan metabolit non-volatil.

5. Islam, *et al.*, (2018) telah melakukan penelitian dengan judul artikel “*In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric Pseudomonas aeruginosa against Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum*”, dalam penelitian itu Islam, *et al.*, (2018) telah melakukan penelitian dengan mengisolasi rizobacterial dari berbagai tanah rizosfer berbagai jenis sayuran. Dalam penelitian ini didapatkan satu isolat yang potensial sebagai antifungi, yaitu isolat BA5. Berdasarkan analisis morfologi, fisiologis, biokimia, dan filogeni, isolat BA5 teridentifikasi sebagai *Pseudomonas aeruginosa*, karena kemampuan antifungi tersebut

strain BA5 dapat digunakan sebagai agen biokontrol terhadap Foc.

6. Guerrero-Barajas, *et al.*, (2020) telah melakukan penelitian dng judul artikel "*Bacillus mycoides* A1 and *Bacillus tequilensis* A3 inhibit the growth of a member of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* species complex in avocado", dalam penelitian tersebut Guerrero-Barajas, *et al.*, (2020) telah mengisolasi bakteri dari tanah rizosfer alpukat, didapatkan 136 isolat bakteri. Dari 136 isolat bakteri tersebut didapatkan 3 isolat (isolat A1, A2, A3) yang berpotensi sebagai antifungi. Ketiga isolat tersebut, setelah diidentifikasi menggunakan 16S rRNA ketiga isolat tersebut memiliki similaritas dengan *Bacillus mycoides* (A1 dan A2) dan *Bacillus tequilensis* (A3). Isolat tersebut dapat digunakan untuk menekan perkembangan penyakit antraknosa yang disebabkan oleh *C. gloeosporioides*.
7. Barrios-Roblero, *et al.*, (2019) telah melakukan penelitian yang berjudul "*Antifungal lactic acid bacteria isolated from fermented beverages with activity against Colletotrichum gloeosporioides*", dalam penelitian tersebut Barrios-Roblero, *et al.*, (2019) melakukan isolasi bakteri asam laktat (BAL) dari dua

sampel minuman fermentasi (Tepache dan Tejuino). Dari hasil isolasi didapatkan 10 BAL yang memiliki aktivitas antifungi yang kuat terhadap fitopatogen *Colletotrichum gloeosporioides* penyebab antraknosa pada pepaya. Sepuluh strain BAL dengan kemampuan antijamur yang kuat diidentifikasi sebagai *Lactobacillus plantarum* (3 strain), *L. paracasei* (4 strain) dan *L. pentosus* (3 strain). Semua strain menghambat perkecambahan spora setidaknya 60% dan pertumbuhan miselium hingga 100%. Hasil ini berpotensi berkontribusi pada pencarian agen biokontrol yang tidak berbahaya untuk jamur penyebab antraknosa pada buah-buahan.

8. Saravanakumar, *et al.*, (2019) telah melakukan penelitian dengan judul "*Antagonistic potential of lipopeptide producing Bacillus amyloliquefaciens against major vegetable pathogens*", dalam penelitian tersebut Saravanakumar, *et al.*, (2019), mengevaluasi mikroorganisme dengan kemampuan antagonis sebagai agen biokontrol pada patogen tanaman di daerah tropis. Kemudian, aktivitas lipopeptida dan potensi biokontrol strain *B. amyloliquefaciens* dapat efektif pada penyakit bercak daun tanaman selada yang disebabkan *Cercospora*. Studi ini memberikan

bukti untuk potensi biokontrol dari lipopeptida yang memproduksi strain *B. amyloliquefaciens* dalam mengendalikan agen penyebab penyakit pada sayuran.



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **A. Tempat dan waktu penelitian**

Penelitian telah dilaksanakan di laboratorium terpadu UIN Walisongo Semarang dan laboratorium Biosistematika dan Evolusi Mikroorganisme bidang mikrobiologi Puslit Biologi LIPI. Penelitian ini telah dilakukan pada bulan Maret-Agustus 2021.

### **B. Alat dan Bahan**

#### 1. Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian adalah cawan petri (Steriplan), *conical tube* 15 ml (Scilogex), *screw cap tube* 2 ml, spatula, vortex (DLAB), neraca digital (OHAUS SCOUT SERIES), autoklaf (Hirayama HVE 50), erlenmeyer (schott durant), gelas ukur (schott durant), *magnetic hot plate stirrer* (Benchmark), kaca *spreader*, ose, inkubator (Memmert), kulkas pendingin (*refrigerator*) (ESCO), mikropipet (DLAB), *pipet tip*, gelas beaker (schott durant), *orbital shaker* (DLAB), *centrifuge* (DLAB), *rotary evaporator* (DLAB RE100-Pro), *gas chromatography-mass spectrophotometry* (GC-MS) (Shimadzu GCMS-QP 2010 Ultra), pinset, *laminar air flow* (LAF) (ESCO).

#### 2. Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian adalah larutan garam 85% steril, nystatin, asam nalidiksat, media *Starch Casein Agar* (SCA), media *Potato Dextrose Agar* (PDA)

(Merck), *Yeast Extract Glucose Agar (YEGA)*, *Yeast Extract Glucose Broth (YEGB)*, etil asetat, sarang rayap tipe *arboreal*, isolat fungi patogen dari InaCC (*Indonesian Culture Collection*) LIPI yaitu isolat *Fusarium oxysporum* (InaCC F641), *Colletotrichum gloeosporioides* (InaCC F345), *Aspergillus flavus* (InaCC F23).

### C. Prosedur Kerja

#### 1. Koleksi dan Preparasi Sampel sarang rayap

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik *cluster sampling*, dimana area penelitian terbagi menjadi kawasan rendah, tengah, dan atas. Hal ini dikarenakan area sampling berbentuk perbukitan. Sampel sarang rayap akan diambil di hutan perbukitan lereng Gunung Muria, Desa Tempur, Kec. Keling, Kab. Jepara, Provinsi Jawa Tengah, Indonesia. Sampel sarang rayap yang digunakan dalam penelitian ini adalah tipe *arboreal*. Sampel sarang rayap diambil sekitar 10 gr yang ditempatkan pada *corning tube* 10ml dan kemudian disimpan pada *ice box* lalu ditransfer ke laboratorium secepatnya. Semua sampel sarang rayap kemudian dihaluskan dan disiapkan untuk teknik isolasi.

#### 2. Isolasi Bakteri dari sarang rayap

Sampel yang sudah dihaluskan kemudian diambil sebanyak 10 gr kemudian dilarutkan menggunakan akuades steril. Sampel diberi perlakuan awal dengan *moist heating*, yaitu sampel dipanaskan pada waterbath pada suhu 50°C



selama 1 jam. Sampel yang sudah diberi perlakuan awal kemudian dilakukan pengenceran bertingkat  $10^{-1}$  sampai  $10^{-5}$ . Teknik inokulasi mikroba yang digunakan adalah teknik *spread*, dengan mengambil 100  $\mu\text{l}$  sampel tiap pengenceran kemudian diratakan menggunakan kaca spreader pada media SCA (*Starch Casein Agar*) yang sudah disuplementasi menggunakan nistatin dan asam nalidiksat (konsentrasi akhir 40 dan 50  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 7-14 hari (Sujada *et al.*, 2014). Pemurnian bakteri dilakukan menggunakan media YEGA (*Yeast Extract Glucose Agar*). Bakteri yang sudah murni kemudian disimpan pada *cryotube* yang berisi 10% gliserol steril dengan suhu  $-20^{\circ}\text{C}$  untuk pengujian lebih lanjut (Putri *et al.*, 2020).



Gambar 3. 1 Sampel sarang rayap, (a) sarang rayap MYN.SR.A, (b) sarang rayap MYN.SR.B, (c) sarang rayap MYN.SR.C

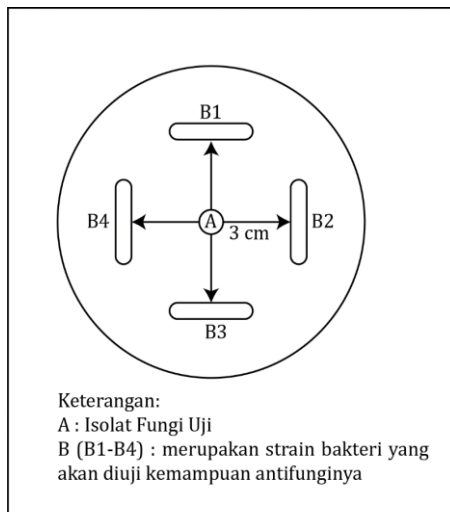
### 3. Skrining bakteri penghasil antifungi terhadap fungi patogen

Skrining aktivitas antifungi menggunakan 3 jenis fungi patogen yaitu *Fusarium oxysporum* (InaCC F641), *Colletotrichum gloeosporioides* (InaCC F345), *Aspergillus flavus* (InaCC F23) sebagai fungi uji. Fungi uji tersebut merupakan koleksi dari Indonesian Culture Collection (InaCC), LIPI. Fungi uji tersebut kemudian di kultur ulang pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*). Pengujian *in vitro* aktivitas antifungi menggunakan metode *dual culture* (Islam, *et al.*, 2018). Skrining aktivitas antifungi dilakukan dengan cara menginokulasikan 6 mm miselium fungi patogen di tengah media PDA. Kemudian isolat bakteri ditumbuhkan dengan cara streak dengan jarak 3 cm dari isolat fungi patogen. Pada cawan petri kontrol tanpa isolat bakteri uji. Kemudian cawan petri diinkubasi pada suhu 30° C selama 5-7 hari. Aktivitas antifungi ditunjukkan dengan adanya zona hambat pada tepi pertumbuhan miselium fungi patogen.

Penghitungan luas pertumbuhan miselium fungi menggunakan program imageJ, sedangkan persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi dihitung menggunakan rumus persentase penghambatan (Narayanasamy, 2013). Analisis statistik dilakukan menggunakan analisis *anova single factor* dan uji lanjut BNT 5% menggunakan Ms. Excel (Masrukhin, 2021).

Rumus Penghambatan pertumbuhan miselium fungi (Narayanasamy, 2013) adalah sebagai berikut:

$$\frac{\text{luas miselium fungi kontrol} - \text{luas miselium fungi uji}}{\text{luas miselium fungi kontrol}} \times 100\%$$



Gambar 3. 2 Skema Teknik Skrining Antifungi

4. Ekstraksi metabolit sekunder bakteri potensial  
 Teknik ekstraksi menggunakan metode Sujada *et al.*, (2014) dengan sedikit modifikasi. Bakteri yang menunjukkan aktivitas antifungi potensial kemudian ditumbuhkan pada media *Yeast Extract Glucose Broth* (YEGB). Sebanyak satu *loop* ose bakteri ditanam pada 10 ml media YEGB dan diinkubasikan pada suhu 30° C selama 48 jam. Kemudian 1 ml isolat bakteri kemudian ditanamkan pada 100 ml YEGB kemudian diinkubasikan pada *rotary shaker* dengan kecepatan 125 rpm

pada suhu 30° C selama 5 hari. Setelah itu, biomassa sel dipisahkan menggunakan teknik sentrifugasi. Biomassa sel dipisahkan menggunakan sentrifus dengan kecepatan 4.500 rpm selama 15 menit. Kemudian supernatan dari masing-masing kultur cair diekstraksi menggunakan etil asetat dengan perbandingan 1:1 (v/v). Campuran tersebut kemudian digoyang menggunakan *orbital shaker* dengan kecepatan 125 rpm selama 2 jam, kemudian proses ekstraksi diulangi sebanyak 3 kali. Fase organik etil asetat dipisahkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40° C. Hasil ekstraksi kemudian digunakan untuk uji ekstrak metabolit sekunder isolat bakteri terhadap fungi patogen.

Uji ekstrak metabolit sekunder isolat bakteri terhadap fungi patogen menggunakan metode *disk diffusion agar*. Ekstrak etil asetat kemudian diencerkan dengan konsentrasi 50 mg mL<sup>-1</sup>. Miselium fungi diletakkan di tengah cawan petri, kemudian kertas cakram dihadapkan dengan isolat jamur patogen pada jarak 3 cm. Lalu kertas cakram ditetesi ekstrak etil asetat metabolit sekunder isolat bakteri sebanyak 15 µl. Cawan petri kemudiaan diinkubasi pada suhu 30° C selama 5-7 hari. Hasil positif aktivitas antifungi ditunjukkan dengan adanya penghambatan pertumbuhan miselium fungi patogen.

5. Analisis senyawa kimia ekstrak etil asetat isolat bakteri dengan aktivitas antifungi

Ekstrak metabolit sekunder isolat bakteri yang memiliki aktivitas antifungi dianalisis dengan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) untuk melihat senyawa yang terkandung di dalamnya. Kromatografi gas spektrum massa merupakan perpaduan antara kromatografi gas dan spektroskopi massa. Analisis GC-MS dilakukan dengan melarutkan ekstrak sampel dengan etil asetat p.a kemudian diinjeksikan ke alat GC-MS. Instrumen yang digunakan adalah Shimadzu GCMS-QP 2010 Ultra (Shimadzu) dengan fase diam Rtx-5MS (5% difenil 95% dimetil polisiloksan) panjang kolom 30 m dan diameter 0,25 mm. Gas pembawa helium ultra high purity dengan tekanan 30 kPa, volume injeksi 1  $\mu$ L, suhu injector 200°C, suhu ion source 230°C, suhu interface 280°C, mode split 25. Temperatur kolom diprogram dari 60°C ditahan 5 menit kemudian dinaikkan menjadi 300°C dengan laju kenaikan 15°C/menit, ditahan 10. Database yang digunakan adalah NIST 11.

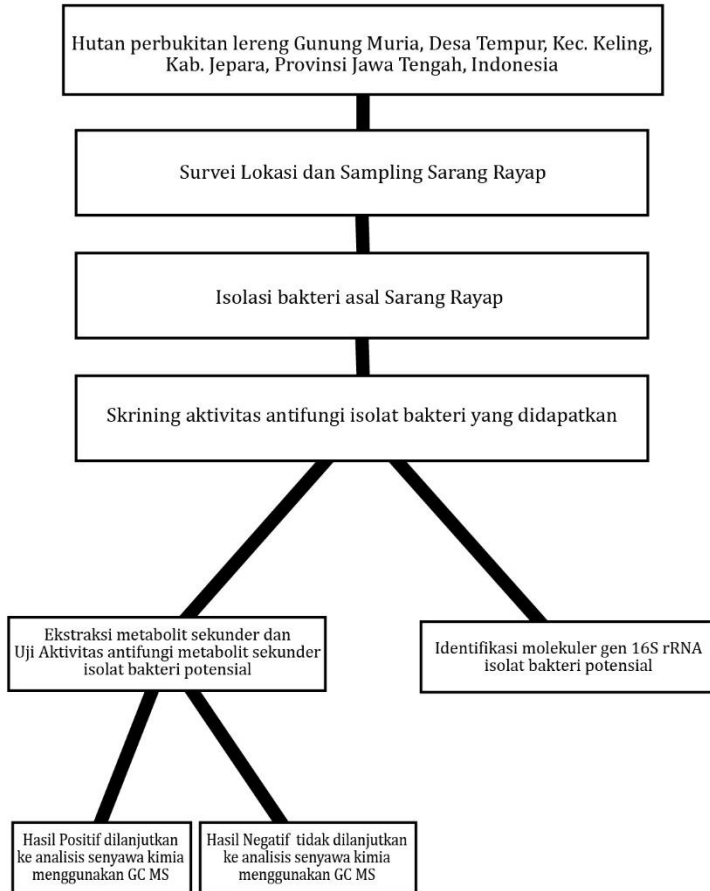
6. Identifikasi molekuler bakteri potensial penghasil antifungi menggunakan sekuen gen 16s rRNA

Total genom DNA diekstraksi menggunakan Genomic DNA Mini Kit (*Blood/Cultured Cell*) (Geneaid Biotech Ltd.). Genom DNA yang didapatkan dari hasil ekstraksi kemudian dilanjutkan ke tahap amplifikasi gen 16S rRNA. Fragmen gen

16S rRNA diamplifikasi menggunakan Arktik™ *thermal cycler* (Thermo Scientific). Komposisi *master mix* terdiri dari primer universal 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') dan 1492R (5'-GGCTACCTTGTACGACTT-3') (Wei, *et al.*, 2021). Masing-masing primer diambil 1,5 µl, lalu Boline MyTaq Redmix (Meridian Bioscience) 15 µl, dan *Nuclease-free water* (Himedia) 10 µl serta DNA *template* sampel 2 µl. Kondisi PCR dimulai dengan predenaturasi pada suhu 94°C selama 1 menit dan diikuti dengan proses PCR sebanyak 35 siklus (denaturasi pada 95°C selama 30 detik, annealing pada 55°C selama 30 detik, dan elongation pada 72°C selama 30 detik). Amplifikasi gen 16S rRNA dikonfirmasi menggunakan gel elektroforesis 1% 100 volt selama 30 menit. Kemudian fragmen gen 16S rRNA dipurifikasi dan disekuensing melalui laboratorium jasa sekuensing 1st Base®. (Putri, *et al.*, 2020).

Data sekuensing gen 16S rRNA kemudian dibandingkan dengan data sekuen yang ada pada *genbank* menggunakan perangkat lunak *Basic Local Alignment Search Tools for Nucleotide* (blastn) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) (Gerin, *et al.*, 2020). Lalu data sekuen yang didapat kemudian disejajarkan menggunakan ClustalW yang ada pada Mega 7 (Kumar, *et al.*, 2016). Rekonstruksi pohon filogenetik nukleotida menggunakan metode *Neighbor Joining* dengan 1000 kali *bootsrap* (Putri, *et al.*, 2020).

## 7. Alur Penelitian



Gambar 3. 3 Alur Penelitian





## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **1. Isolasi bakteri asal sarang rayap**

Isolasi bakteri dilakukan dari sampel sarang rayap MYN.SR.A, MYN.SR.B, dan MYN.SR.C (gambar 3.1). Isolasi bakteri menggunakan media *Starch casein Agar* (SCA). Media SCA merupakan media yang cocok digunakan untuk isolasi bakteri karena menunjukkan pertumbuhan yang baik dari bakteri yang diisolasi (Duddu, & Guntuku, 2016). Media SCA juga baik digunakan untuk kultivasi atau enumerasi *actinomycetes* yang berasal dari sampel air atau tanah (Atlas, R.M, 2010).

Berdasarkan hasil isolasi bakteri didapatkan total 41 isolat bakteri dari 3 sampel sarang rayap, kemudian dimurnikan dalam media *Yeast Extract Glucose Agar* (YEGA). Media YEGA dalam penelitian Ruttanasutja, & Pathom-aree (2015) juga digunakan untuk pemurnian bakteri hasil isolasi. Glukosa pada media YEGA berfungsi sebagai sumber karbon, sedangkan *yeast extract* berfungsi sebagai sumber nitrogen bagi bakteri (Hakobyan, *et al.*, 2012; Molina-Ramírez, *et al.*, 201). Dari total 41 isolat bakteri yang didapatkan, 11 isolat bakteri dari sampel sarang rayap MYN.SR.A, 22 isolat bakteri dari sampel sarang rayap MYN.SR.B, dan 8 isolat dari sampel sarang rayap

MYN.SR.C (Diagram 4.1). Isolat-isolat tersebut tersebut kemudian diskroning aktivitas antifunginya.

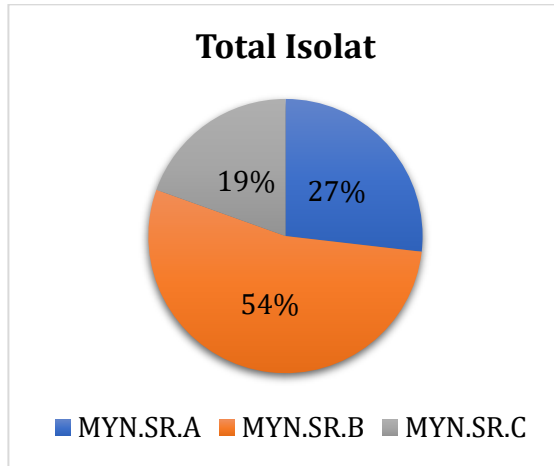


Diagram 4. 1 Total isolat asal sarang rayap

Jumlah isolat bakteri paling banyak didapatkan dari sampel MYN.SR.B, kemudian diikuti isolat bakteri dari sampel sarang rayap MYN.SR.A dan MYN.SR.C. Jumlah isolat yang didapatkan dalam penelitian ini lebih sedikit daripada penelitian yang sudah dilakukan oleh sujada *et al.*, (2014) yaitu 118 isolat, namun lebih banyak daripada penelitian yang dilakukan oleh Devi *et al.*, (2018) yaitu 21 isolat dan Krishanti *et al.*, (2018) yaitu 10 isolat bakteri.

Penelitian Manjula *et al.* (2014) menyebutkan bahwa sarang rayap memiliki diversitas bakteri yang cukup tinggi. Berdasarkan pendekatan metagenomik filum Proteobacteria

memiliki jumlah yang paling tinggi yaitu 32%, kemudian filum Actinobacteria (20%), filum Bacteroidetes/chlorobi (7%), dan filum Fibrobacteres/acidobacteria (6%), serta paling sedikit adalah Filum Firmicutes hanya sekitar 5% dari total populasi mikroba. Sedangkan, berdasarkan pendekatan melalui kultur mikroba filum yang paling dominan adalah filum firmicutes (74%), lalu filum proteobacteria (22%) dan yang terakhir adalah filum actinobacteria (3%) dari keseluruhan total kultur mikroba (Manjula, *et al.*, 2014).

Enagbonma & Babalola (2019a) melaporkan bahwa bakteri asal sarang rayap memiliki manfaat yang beragam, diantaranya yaitu membantu proses produksi biofuel dengan kemampuan degradasi lignoselulosa yang dimiliki bakteri, kemampuan bioremediasi dan biofiltrasi. Selaras dengan hal tersebut, bakteri yang ada pada sarang rayap memiliki fungsi sebagai agen biofertilizer serta sebagai agen biokontrol. Bakteri dalam sarang rayap tersebut dapat meningkatkan kesuburan tanah (fiksasi nutrisi) dan menekan pertumbuhan patogen tanaman tular tanah (produksi antibiotik). Kemampuan biofertilizer dan biokontrol ini akan mengurangi penggunaan pupuk kimia dan pestisida, sehingga dapat meningkatkan hasil produksi pertanian (Enagbonma & Babalola, 2019b).

Salah satu jenis patogen yang menyerang tanaman adalah fungi. Fungi patogen tanaman dapat menyebabkan kerusakan pada tanaman yang berimbas pada kegiatan pertanian dan produksi pangan (Almeida, *et al.*, 2019). Selaras dengan hal tersebut, Rózewicz, *et al.* (2021) menyebutkan bahwa fungi patogen yang menyerang tanaman serealia dapat menyebabkan penurunan hasil produksi sebesar 15-20%, bahkan pada kasus yang lebih ekstrim dapat mencapai 60% hasil produksi. Beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya penyakit tersebut diantaranya adalah kondisi cuaca selama proses pertumbuhan tanaman, sistem pengolahan tanah, serta pemupukan nitrogen (Rózewicz, *et al.*, 2021).

Fungi patogen yang digunakan sebagai fungi uji dalam penelitian ini adalah *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Aspergillus flavus* karena banyak kasus penyakit pada tanaman yang disebabkan oleh fungi-fungi tersebut seperti fungi *Colletotrichum gloeosporioides* yang menyebabkan penyakit antraknosa pada Uwi (*Dioscorea alata*), mangga (*Mangifera indica*), anggur (*Vitis vinifera*), mulberry, sorgum kuning, vanila, Strawberry, kopi, teh, coklat, dan Pepaya (Ajay Kumar, 2014; Guo, *et al.*, 2014; Sharma & Kulshrestha, 2015), fungi *Fusarium oxysporum* yang menyebabkan penyakit layu fusarium pada pisang, tomat (Damodaran, *et al.*, 2019; Hung, *et al.*, 2018; Gordon, 2017),

infeksi fungi *Aspergillus flavus* pada jagung, almond (Dolezal, *et al.*, 2014; Donner, *et al.*, 2015; Masiello, *et al.*, 2019; Tijjani, *et al.*, 2014b).

Pengendalian fungi patogen tanaman biasanya menggunakan fungisida, namun fungisida memiliki dampak negatif bagi lingkungan dan hewan. Zubrod, *et al.*, (2019) dalam penelitiannya menyebutkan bahwa penggunaan fungisida yang terlalu sering memiliki efek langsung dan tidak langsung pada mikroorganisme, makrofita, vertebrata dan invertebrata. Penggunaan fungisida juga dapat menurunkan diversitas mikroorganisme non target yang ada pada tanaman. Schaeffer, *et al.*, (2017) dalam penelitiannya juga menyebutkan bahwa penggunaan fungisida dapat menurunkan kekayaan dan keragaman fungi non target yang berperan sebagai mediator penyerbukan pada tanaman.

Penggunaan fungisida dapat diganti agen biokontrol menggunakan bakteri untuk meminimalisir efek negatif yang dihasilkan fungisida. Beberapa penelitian telah mendeskripsikan kemampuan isolat bakteri yang dapat digunakan sebagai biokontrol terhadap fungi patogen tanaman, diantaranya adalah golongan bakteri asam laktat seperti genus *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus* dan *Pediococcus*, spesies *Bacillus*, Spesies *Pseudomonas*, spesies *streptomyces* serta masih banyak lagi

bakteri dengan kemampuan antifungi yang dapat dijadikan agen biokontrol (Calderón, *et al.*, 2015; Faheem, *et al.*, 2015; Gajbhiye & Kapadnis, 2016; Khan *et al.*, 2018; Lu, *et al.*, 2016).

Isolasi bakteri dari asal sarang rayap bertujuan untuk mencari isolat bakteri yang memiliki kemampuan antifungi sehingga dapat digunakan sebagai biokontrol fungi patogen yang menyebabkan penyakit pada tanaman. Pada tahap isolasi bakteri didapat 41 isolat bakteri asal sarang rayap, kemudian dilakukan skrining untuk mengetahui kemampuan antifunginya. Hasil skrining didapatkan 3 isolat bakteri yang memiliki potensi yang paling baik berdasarkan jarak penghambatan fungi dan luas pertumbuhan fungi (Diagram 4.2 dan Diagram 4.3) yaitu isolat bakteri B7, B13, dan B16.

Isolat bakteri asal sarang rayap yang memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan patogen tanaman diantaranya sudah dilaporkan dalam penelitian terdahulu. Sujada *et al.*, (2014) telah melaporkan beberapa isolat bakteri genus *Streptomyces* dan non-*Streptomyces* memiliki kemampuan antibakteri dan antifungi, Krishanti *et al.*, (2018) juga melaporkan bahwa isolat bakteri *Streptomyces prasinopilosus* yang didapat dari sarang rayap *Nasutitermes sp.* juga memiliki kemampuan antimikroba yang serupa.

## 2. Skrining aktivitas antifungi

Total isolat yang didapatkan kemudian dilanjutkan pada skrining aktivitas antifungi. Fungi uji yang digunakan berasal dari *Indonesian Culture Collection* (InaCC) LIPI yaitu *Fusarium oxysporum* Schlect (InaCC F641), *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz) Sacc (InaCC F345), dan *Aspergillus flavus* Link. (InaCC F23). Skrining aktivitas antifungi dilakukan pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA). Media PDA merupakan media yang umum digunakan untuk menumbuhkan jamur dan bakteri (Atlas, 2010).

Hasil skrining menunjukkan terdapat 18 isolat bakteri potensial yang memiliki kemampuan antifungi yaitu MYN.SR.A4, MYN.SR.B2, MYN.SR.B3, MYN.SR.B7, MYN.SR.B.8, MYN.SR.B9, MYN.SR.B10, MYN.SR.B11, MYN.SR.B12, MYN.SR.B13, MYN.SR.B14, MYN.SR.B15, MYN.SR.B16, MYN.SR.B17, MYN.SR.B18, MYN.SR.B20, MYN.SR.B21, dan MYN.SR.B22. Hasil Positif skrining ditunjukkan dengan adanya garis tegas penghambatan pertumbuhan miselium fungi yang menghadap ke isolat bakteri. Adanya zona hambat tersebut menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki kandungan senyawa bioaktif yang melawan pertumbuhan miselium fungi. Isolat bakteri yang menunjukkan aktivitas antifungi negatif, kemungkinan senyawa aktif yang dimiliki sangat kecil atau senyawa tersebut aktif terhadap jenis

mikroba lain yang tidak digunakan dalam penelitian ini (Widowati, 2013).



Gambar 4. 1 Contoh hasil positif skrining isolat bakteri terhadap fungi patogen (Isolat B16 terhadap Fungi *Aspergillus flavus* InaCC F23 )

Kemudian dari 18 isolat tersebut diskriminasi lagi untuk mendapatkan 3 isolat yang memiliki daya hambat paling baik (Lampiran 1). Hasil skrining menunjukkan bahwa isolat MYN.SR.B7, MYN.SR.B13, dan MYN.SR.B16 memiliki daya hambat yang paling baik (diagram 4.2 dan diagram 4.3).



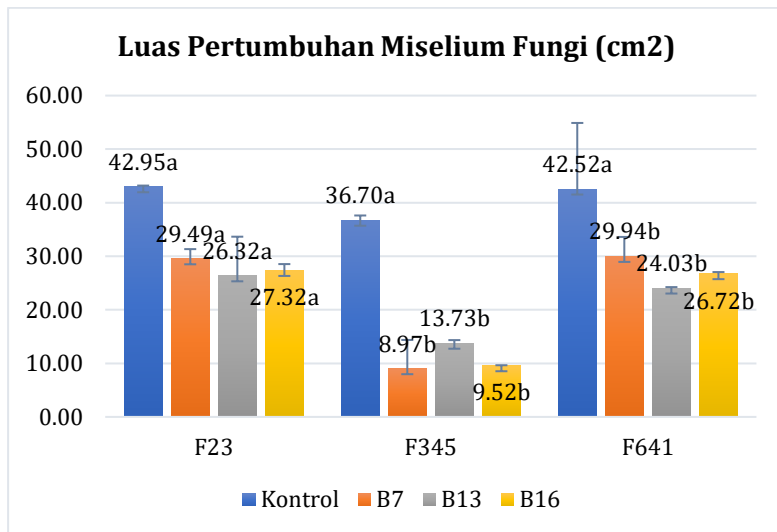


Diagram 4. 2 Luas Pertumbuhan Miselium (dalam cm<sup>2</sup>)

Berdasarkan diagram 4.2, pertumbuhan isolat fungi *Aspergillus flavus* F23 secara berurutan yaitu perlakuan kontrol 42,95 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat B7 29,49 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat B13 26,23 cm<sup>2</sup>, dan perlakuan isolat B16 27,32 cm<sup>2</sup>. Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan isolat fungi *Aspergillus flavus* F23 terhambat dengan adanya perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16

Kemudian, berdasarkan diagram 4.2, pertumbuhan isolat fungi *Colletotrichum gloeosporioides* F345 secara berurutan yaitu perlakuan kontrol 36,70 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat bakteri B7 8,97 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat bakteri B13 13,73 cm<sup>2</sup>, dan perlakuan isolat bakteri B16 9,52 cm<sup>2</sup>. Hal ini menunjukkan

bahwa pertumbuhan isolat fungi *Colletotrichum gloeosporioides* F345 terhambat dengan adanya perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16 .

Lalu, berdasarkan diagram 4.2, pertumbuhan isolat fungi *Fusarium oxysporum* F641, secara berurutan yaitu perlakuan kontrol 42, 52 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat B7 29,94 cm<sup>2</sup>, perlakuan isolat bakteri B13 24,03 cm<sup>2</sup>, dan perlakuan isolat bakteri B16 26,72. Hal ini menunjukkan bahwa perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16 dapat menghambat pertumbuhan miselium fungi *Fusarium oxysporum* F641.

Berdasarkan analisis *anova single factor* dan uji lanjut BNT 5%, luas pertumbuhan miselium fungi (diagram 4.2) pada perlakuan kontrol, isolat bakteri B7, B13, dan B16 terhadap isolat fungi *Aspergillus flavus* F23 tidak berbeda nyata, kemudian pada perlakuan kontrol dengan perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16 pada isolat fungi *Colletotrichum gloeosporioides* F345 dan fungi *Fusarium oxysporum* F641 ada perbedaan nyata, namun antar perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16 terhadap isolat fungi *Colletotrichum gloeosporioides* F345 dan fungi *Fusarium oxysporum* F641 tidak berbeda nyata (Lampiran 3).

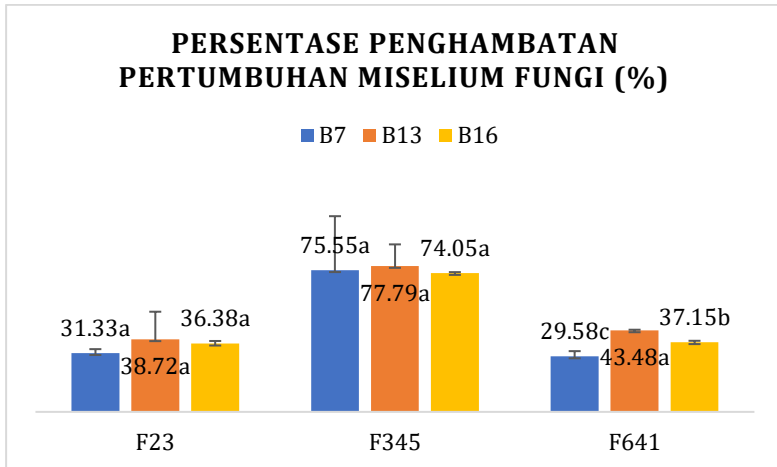


Diagram 4. 3 Persentase Penghambatan

Berdasarkan diagram 4.3, persentase penghambatan pertumbuhan miselium paling tinggi terhadap isolat fungi *Aspergillus flavus* F23 dimiliki oleh isolat bakteri B13 lalu isolat bakteri B16 dan yang terakhir isolat bakteri B7.

Kemudian pada persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi *Colletotrichum gloeosporioides* F345, isolat bakteri B13 memiliki persentase penghambatan paling tinggi, kemudian isolat B7, lalu isolat B16.

Lalu persentase penghambatan pada pertumbuhan miselium isolat fungi *Fusarium oxysporum* F641, isolat bakteri B13 memiliki persentase penghambatan yang paling tinggi, kemudian isolat bakteri B16, lalu yang terakhir isolat bakteri B7.

Berdasarkan analisis *anova single factor* dan uji lanjut BNT 5%, persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi, perlakuan isolat bakteri B7, B13, dan B16 tidak berbeda nyata terhadap isolat fungi *Aspergillus flavus* F23 dan *Colletotrichum gloeosporioides* F345, namun memiliki nilai yang berbeda nyata pada isolat fungi *Fusarium oxysporum* F641 (Lampiran 4).

### **3. Ekstraksi antifungi dan uji ekstrak antifungi**

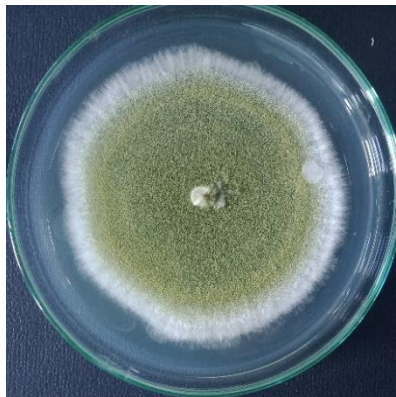
Proses ekstraksi antifungi dimulai dengan menanam bakteri uji (B7, B13 dan B16) dalam media cair *yeast extract glucose agar* selama 5 hari. Lalu, media kultur diekstraksi menggunakan pelarut semi polar etil asetat. Etil asetat digunakan sebagai pelarut karena memiliki sifat semi polar sehingga rentang kepolaran yang luas (antara polar dan non polar) sehingga dapat menarik senyawa-senyawa pada rentang antara polar dan non polar. Selain itu, etil asetat juga memiliki tingkat toksisitas yang rendah dan sangat mudah diuapkan (Amelia & Ngazizah, 2021).

Berdasarkan Uji ekstrak etil asetat isolat bakteri menunjukkan hasil yang negatif (tabel 4.2). Hasil negatif ditunjukkan dengan tidak adanya garis tegas yang muncul pada sisi pertumbuhan miselium fungi yang menghadap ke bagian kertas cakram (gambar 4.2). Hasil negatif dapat

disebabkan media kultur cair yang kurang sesuai dengan isolat bakteri sehingga produksi antifungi kurang maksimal.

Tabel 4.1 Hasil pengamatan uji antifungi ekstrak etil asetat isolat bakteri

No	Kode Strain isolat	Hari Ke-7		
		F23	F345	F641
1	Kontrol	-	-	-
2	B7	-	-	-
3	B13	-	-	-
4	B16	-	-	-



Gambar 4. 2 Hasil negatif uji antifungi ekstrak etil asetat isolat bakteri B13 terhadap fungi F23

Media dengan kandungan nitrogen dan karbon yang berbeda akan mempengaruhi produksi antifungi oleh isolat bakteri. Media PDB (*Potato Dextrose Broth*) menjadi media yang paling optimal dalam produksi senyawa antifungi oleh

bakteri *streptomyces padanus* (Sujada, *et al.*, 2014). Selain kandungan nitrogen dan karbon, variasi genetik juga mempengaruhi produksi senyawa antifungi oleh isolat bakteri. Hal ini dibuktikan dalam penelitian Sujada *et al.*, (2014) dengan penelitian Gupte & Kulkarni (2002), meskipun keduanya menggunakan media kultur yang terdiri dari glukosa sebagai sumber karbon dan *soybean meal* sebagai sumber nitrogen, produksi senyawa antifungi yang dihasilkan berbeda.

Media kultur lain yang baik dalam proses produksi senyawa antifungi dapat dilihat pada tabel berikut ini:

Tabel 4.2 Media yang telah dilaporkan baik dalam proses produksi senyawa antifungi oleh bakteri

No	Penelitian	Media	Komposisi
1	Human <i>et al.</i> , (2016)	YEME	4 gr yeast extract, 10 gr malt extract, dan 4 gr glukosa dalam 1 L akuades
2	Tata <i>et al.</i> , (2018)	Bennett's agar	10 gr glukosa, 1 gr yeast extract, 2 gr peptone, 1 gr beef extract, dan 15 gr agar dalam 1 L akuades
3	Zhao <i>et al.</i> , (2016)	-	pati 84.96 g, tepung kedelai 4.13 g, K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> 2.14 g, MgSO <sub>4</sub> 1.23 g, glukosa 5 g and NaCl 0.5 g, 1 L akuades
4	Nguyen <i>et al.</i> , (2015)	Gelatin chitin medium	-

No	Penelitian	Media	Komposisi
5	Sudiana <i>et al.</i> , (2020)	Yeast Starch Broth	-

Berdasarkan target antifungi, mekanisme antifungi secara garis besar dibagi menjadi 7 mekanisme yaitu, penghambat biosintesis ergosterol (Azoles, Allylamines, dan Morpholines), disruptor membran jamur, sintesis dinding sel jamur (inhibitor sintesis  $\beta$ -glukan dan inhibitor sintesis kitin), disruptor biosintesis sphingolipids, penghambat sintesis asam nukleat, penghambat biosintesis protein, dan penghambat biosintesis mikrotubulus (Campoy & Adrio, 2017).

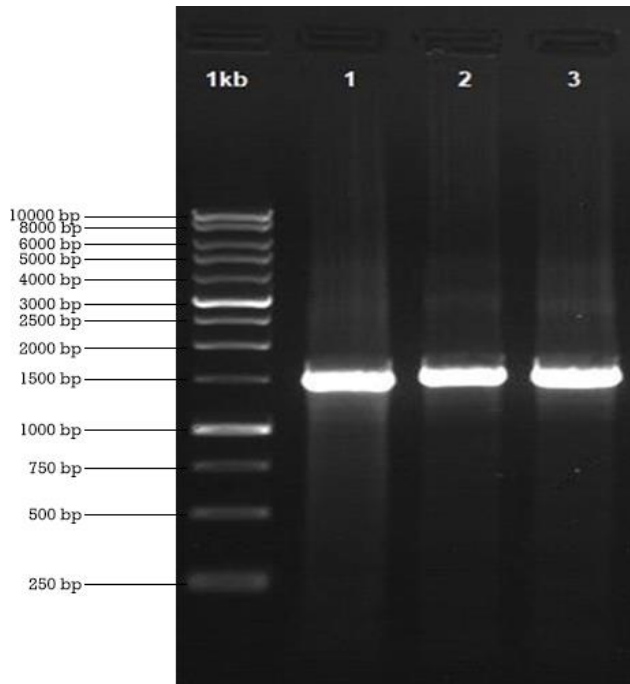
#### 4. Identifikasi molekuler bakteri berdasarkan gen 16S

##### rRNA

Isolat bakteri B7, B13, dan B16 yang sudah diuji aktivitas antifunginya, kemudian dianalisis menggunakan pendekatan molekuler menggunakan gen 16S rRNA dengan teknik PCR menggunakan primer forward 27F dan primer reverse 1492R (Wei, *et al.*, 2021). Fragmen gen 16S rRNA yang teramplifikasi yaitu  $\pm$  1460 bp (gambar 4.3 ).

Genotipik isolat B7, B13, dan B16 ditentukan dengan analisis sekuen gen 16S rRNA hasil amplikasi pada masing-masing isolat. Basa nukleotida yang terbaca dari hasil analisis

sekuen gen 16S rRNA yaitu isolat B7 (833 bp), isolat B13 (1157 bp), dan isolat B16 (1137 bp) (Lampiran 2).



Gambar 4. 3 Gel elektroforesis pretreatment sekuensing DNA. DNA ladder yang digunakan adalah 1 kb, 1 merupakan isolat B7, 2 merupakan Isolat B13, dan 3 merupakan isolat B16

Berdasarkan hasil analisis sekuensing gen 16S rRNA Isolat bakteri B7, B13, dan B16 dapat dilihat pada lampiran. Hasil analisis sekuen gen 16S rRNA kemudian dianalisis menggunakan program perangkat lunak blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) untuk mengetahui similaritas sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri B7, B13, dan B16 dengan



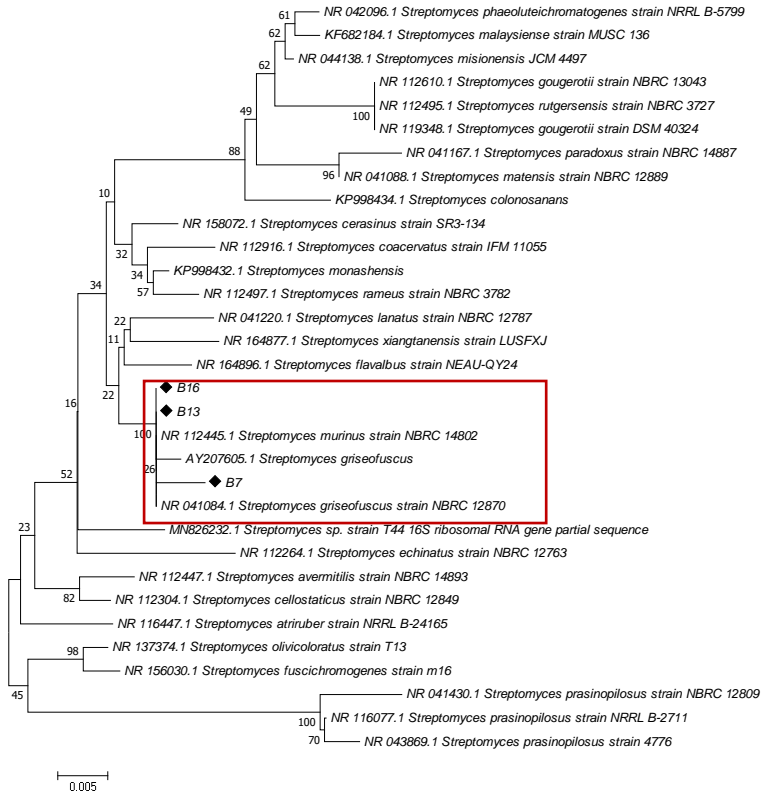
sekuen-sekuen gen 16S rRNA pembanding yang ada di gene bank.

Rekonstruksi pohon filogenetik isolat B7, B13, dan B16 menggunakan metode neighbor-joining dengan 1000 kali bootstrap, tamura 3 parameter. Metode neighbor-joining merupakan suatu teknik/metode rekonstruksi filogenetik berdasarkan data jarak evolusioner. Metode neighbor-joining dipilih karena dapat menemukan pasangan OTU yang meminimalkan panjang cabang pada setiap tahap pengelompokan. Metode neighbor joining terbukti lebih baik dibandingkan metode UPGMA, Metode Farris, Metode Li, dan metode Tateno *et al.* yang memodifikasi metode Farris (Saitou & Nei, 1987).

Model Tamura 3 parameter digunakan karena model ini dapat mengoreksi *multiple hit* dengan mempertimbangkan tingkat transisi dan transversi serta bias konten G-C yang ada. Laju evolusi pada model ini digambarkan dengan model distribusi gamma (Tamura, 1992).

Proses rekonstruksi filogenetik ini menggunakan 29 sekuen pembanding yang didapatkan dari hasil analisis menggunakan program perangkat lunak blastn (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>). Analisis rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode neighbor-joining tree, tamura 3 parameter dengan 1000x bootstrap. Hasil analisis

lanjutan rekonstruksi filogenetik ditampilkan pada gambar 4.5.



Gambar 4. 4 Analisis rekonstruksi filogenetik isolat B7, B13, dan B16 (Neighbor-joining tree, tamura 3 parameter, 1000x bootstrap)

Hasil rekonstruksi filogenetik (gambar 4.3) menunjukkan bahwa isolat B7, B13, dan B16 berada pada satu klad cabang yang sama dengan isolat *S. murinus* dan *S. griseofuscus*. Berdasarkan hasil penelusuran literatur didapatkan bahwa *S.*

*griseofuscus* adalah *basonym* dan atau *heterotypic synonym* dari *S. murinus* (Yoon, *et al.*, 2017; Madhaiyan, *et al.*, 2020). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga isolat potensial merupakan *S. murinus*.

Hasil kesimpulan bahwa isolat B7, B13, dan B16 merupakan *S. murinus* didukung dengan hasil identifikasi bakteri menggunakan perangkat lunak *online* 16S-based ID pada EZ-biocloud (<https://www.ezbiocloud.net/>) (Yoon, *et al.*, 2017). Hasil identifikasi pada program EZ-biocloud juga menunjukkan bahwa isolat B7 memiliki similaritas 99.40%, isolat B13 memiliki similaritas 99.91% dan isolat B16 memiliki similaritas 99.74% dengan *S. murinus* (tabel 4.3).

Tabel 4.3 Hasil identifikasi isolat bakteri B7, B13, dan B16 pada perangkat lunak online Ez-Biocloud

NO	Isolat	Top-hit taxon	Top-hit strain	Similarity (%)	Completeness (%)
1	B7	Streptomyces murinus	NBRC 12799	99.40	57.8
2	B13	Streptomyces murinus	NBRC 12799	99.91	80.1
3	B16	Streptomyces murinus	NBRC 12799	99.74	78.7

Madhaiyan, *et al.*, (2020) menentukan *S. griseofuscus* bersinonim dengan *S. murinus* menggunakan metode hibridisasi DNA-DNA digital (*digital DNA-DNA*

*hybridization/dDDH*), identitas nukleotida rata-rata (*average nucleotide identity/ANI*) dan identitas asam amino rata-rata (*average amino acid identity/AAI*). Sedangkan dalam penelitian Komaki (2021) menggunakan metode MLSA (*Multilocus sequence analysis*), hibridisasi DNA-DNA digital (*digital DNA-DNA hybridization/dDDH*) dan identitas nukleotida rata-rata (*average nucleotide identity/ANI*) untuk menentukan bahwa spesies *Streptomyces costaricanus* dan *Streptomyces phaeogriseichromatogenes* juga *heterotypic synonym* dengan *S. murinus*.

*Streptomyces murinus* merupakan aktinobakteria yang memiliki spora berwarna abu-abu yang tersusun seperti rantai spiral dengan permukaan halus serta pada media *Tyrosine agar* tidak menghasilkan melanin. *Streptomyces murinus* menggunakan d-glukosa, d-manitol, l-rhamnose dan d-xylose untuk pertumbuhan, tetapi tidak menggunakan sukrosa, rafinosa, d-rhamnosa dan l-arabinosa (Madhaiyan, *et al.*, 2020). Berdasarkan penelusuran literatur, *S. murinus* dapat menghasilkan *immobilized glucose isomerase* yang dapat mengkonversi glukosa menjadi fruktosa dalam suhu yang tinggi (Jorgensen, *et al.*, 1988; Bandlish, *et al.*, 2002). Keuntungan penggunaan enzim *immobilized glucose isomerase* dari *S. murinus* adalah memberikan produktivitas yang tinggi, menghasilkan produk sampingan yang rendah dan

meningkatkan aktivitas produksi (Jorgensen, *et al.*, 1988). Penelitian Bandlish *et al.*, (2002) menunjukkan bahwa *immobilized glucose isomerase* dari *S. murinus* mempunyai aktivitas yang lebih baik daripada *Thermotoga maritima* dan *T. neapolitana* (suhu 60° C dengan pH 7.0, suhu 70 ° C dengan pH 5.5 dan 7.0, dan suhu 80° C dengan pH 5.5 dan 7.0).

Aktivitas antifungi dari *S. murinus* belum ada literatur yang melaporkan secara spesifik bahwa *S. murinus* memiliki aktivitas antifungi, namun dalam penelitian Human *et al.*, (2016) menyebutkan bahwa *Streptomyces spp.* Memiliki aktivitas antifungi berada dalam satu klad yang sama dengan *S. murinus* dan penelitian Sharma & Thakur (2020) isolat PB-33 KM406389 yang memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* berdasarkan rekonstruksi filogenetik 16s rDNA berada pada satu klad yang sama dengan *S. murinus*, akan tetapi kedua penelitian tersebut tidak menyebutkan secara spesifik bahwa isolat mereka adalah *S. murinus*. Meskipun begitu, genus *Streptomyces* sudah banyak dilaporkan yang memiliki aktivitas antifungi diantaranya adalah sebagai berikut:

1. Penelitian Marathe, *et al.*, (2020) menjelaskan tentang antifungi sintesis nanopartikel perak (AgNPs) dari *Streptomyces spp.* terhadap jamur *Fusarium verticillioides*. AgNPs hasil sintesis tersebut dapat menghambat

biosintesis ergosterol dan dapat menyebabkan kerusakan pada membran fungi *F. Verticillioides*.

2. Peng *et al.*, (2020) menjelaskan antifungi *fungichromin* dari *Streptomyces sp.* strain WP-1 dari kulit kayu *Pinus dabeshanensis* terhadap berbagai jenis fungi patogen seperti *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Phytophthora infestan*, dan *Candida albicans*.
3. Zhang *et al.*, (2020) menjelaskan antifungi *dinactin* dari *Streptomyces badius* strain gz-8 terhadap fungi *Colletotrichum gloeosporioides*.
4. Yang, *et al.*, (2019) menjelaskan aktivitas antifungi *Streptomyces alboflavus* TD-1 terhadap fungi *Aspergillus flavus*, serta dapat menekan produksi aflatoksin B1.
5. Shakeel, *et al.*, (2018) menjelaskan antifungi *Streptomyces yanglinensis* 3-10 terhadap pertumbuhan fungi *Aspergillus flavus* serta dapat menghambat produksi aflatoksin AFB1.
6. Shahid, *et al.*, (2021) menjelaskan antifungi *Streptomyces amritsarensis* V31 terhadap berbagai jamur patogen seperti *Rhizoctonia solani*, *Alternaria alternata*, *Aspergillus flavus*, *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*, *Sarocladium oryzae* dan *Sclerotinia sclerotiorum*.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

1. Aktivitas antifungi Isolat-isolat bakteri asal sarang rayap menunjukkan aktivitas antifungi yang sangat baik. 18 isolat bakteri memiliki aktivitas antifungi positif terhadap fungi uji. Isolat bakteri B7, B13, dan B16 merupakan isolat bakteri yang memiliki aktivitas antifungi paling baik.
2. Kandungan senyawa kimia antifungi belum teridentifikasi dikarenakan hasil uji ekstrak etil asetat menunjukkan hasil negatif. Media kultur cair *Yeast extract glucose agar* tidak sesuai digunakan sebagai media kultur cair isolat bakteri B7, B13, dan B16.
3. Identifikasi molekuler gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat bakteri B7, B13, dan B16 merupakan spesies *Streptomyces murinus*. Genus *Streptomyces* merupakan jenis bakteri yang memiliki kemampuan antifungi yang luas.

#### **B. Saran**

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk optimasi media kultur cair terhadap isolat bakteri B7, B13, dan B16 sehingga dapat menghasilkan senyawa antifungi yang optimal.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antifungi secara *in planta* untuk mengetahui aktivitas antifungi yang sebenarnya di alam.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang potensi-potensi lain isolat-isolat bakteri yang didapatkan dari sarang rayap.



## DAFTAR PUSTAKA

- Adriyani, R. (2006). Usaha pengendalian pencemaran lingkungan akibat penggunaan pestisida pertanian. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*, 3(1).
- Afriyanto. 2008. Kajian Keracunan Pestisida pada Petani Penyemprot Cabe di Desa Candi Kecamatan Bandungan Kabupaten Semarang. *Thesis Ilmiah*. Semarang: Program Pascasarjana Universitas Diponegoro.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology (Fifth Edition): Plant Disease Epidemiology*. Elsevier Academic Press. Pages 265-291. ISBN 9780120445653. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-047378-9.50014-2>.
- Ajay Kumar, G. (2014). *Colletotrichum gloeosporioides*: biology, pathogenicity and management in India. *Journal of Plant Physiology and Pathology*, 2, 2-11.
- Almeida, F., Rodrigues, M. L., & Coelho, C. (2019). The still underestimated problem of fungal diseases worldwide. *Frontiers in microbiology*, 10, 214.
- Amaiike, S., & Keller, N. P. (2011). *Aspergillus flavus*. *Annual review of phytopathology*, 49, 107-133.
- Amelia, R., & Ngazizah, F. N. (2021). Analisa Ekstrak Etil Asetat Akar Kaik-Kaik (*Uncaria cordata* (Lour.) Merr.)

- Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. *Journal of Indonesian Medical Laboratory and Science*, 2(1), 68-82.
- Anggereini, E. (2008). Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD), Suatu Metode Analisis DNA dalam Menjelaskan Berbagai Fenomena Biologi. *Biospecies*, 73-76.
- Ardiwinata, A. N., & Nursyamsi, D. (2012). Residu pestisida di sentra produksi padi di Jawa Tengah. *Jurnal Pangan*, 21(1), 39-58.
- Arie, T. (2019). Fusarium diseases of cultivated plants, control, diagnosis, and molecular and genetic studies. *Journal of Pesticide Science*, J19-03.
- Arroyo, F. T., Llergo, Y., Aguado, A., & Romero, F. (2009). First report of Fusarium wilt caused by *Fusarium oxysporum* on strawberry in Spain. *Plant Disease*, 93(3), 323-323.
- Atlas, R. M. (2010). *Handbook of microbiological media*. CRC press, Taylor and Francis Group.
- Bandlish, R. K., Michael Hess, J., Epting, K. L., Vieille, C., & Kelly, R. M. (2002). Glucose-to-fructose conversion at high temperatures with xylose (glucose) isomerases from *Streptomyces murinus* and two hyperthermophilic

*Thermotoga* species. *Biotechnology and Bioengineering*, 80(2), 185-194.

- Barrios-Roblero, C., Rosas-Quijano, R., Salvador-Figueroa, M., Gálvez-López, D., & Vázquez-Ovando, A. (2019). Antifungal lactic acid bacteria isolated from fermented beverages with activity against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Food Bioscience*, 29, 47-54.
- Calderón, C. E., Ramos, C., de Vicente, A., & Cazorla, F. M. (2015). Comparative genomic analysis of *Pseudomonas chlororaphis* PCL1606 reveals new insight into antifungal compounds involved in biocontrol. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 28(3), 249-260.
- Campoy, S., & Adrio, J. L. (2017). Antifungals. *Biochemical pharmacology*, 133, 86-96.
- Clement, R. E., & Taguchi, V. Y. (1991). Techniques for the gas chromatography-mass spectrometry identification of organic compounds in effluents. Ontario: Queen's Printer. ISBN 0-7729-59834
- Connor, D. J., Gómez-del-Campo, M., Rousseaux, M. C., & Searles, P. S. (2014). Structure, management and productivity of hedgerow olive orchards: a review. *Scientia Horticulturae*, 169, 71-93.

- Dale, J. W. (2002). *From Genes to Genomics: Concepts and Applications of DNA Technology*. England: John Wiley & Sons LTS.
- Damodaran, T., Mishra, V. K., Jha, S. K., Gopal, R., Rajan, S., & Ahmed, I. (2019). First report of *Fusarium* wilt in banana caused by *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* tropical race 4 in India. *Plant Disease*, 103(5), 1022-1022.
- Dayarathne, M. C., Mridha, A. U., & Wang, Y., (2020). Diagnosis of Fungal Plant Pathogens Using Conventional and Molecular Approaches in Diagnostics of Plant Diseases. IntechOpen.DOI: 10.5772/intechopen.94980.
- Dean, R., Van Kan, J. A., Pretorius, Z. A., Hammond-Kosack, K. E., Di Pietro, A., Spanu, P. D., Rudd, J.J., Dickman, M., Kahmann, R., Ellis, J., & Foster, G. D. (2012). The Top 10 fungal pathogens in molecular plant pathology. *Molecular plant pathology*, 13(4), 414-430.
- del Ángel, E. C., Hernández, F. D., Fuentes, Y. M. O., Morales, G. G., Reyes, F. C., & Tucuch, F. M. (2017). Endophytic bacteria controlling *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* in *Solanum tuberosum*. *European Journal of Physical and Agricultural Sciences* Vol, 5(1).

- Departemen Agama RI. (2010). *Al-Qur'an dan Tafsirnya* (Edisi yang Disempurnakan). Jakarta: Lentera Abadi.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Direktorat Jenderal Pengawasan Obat Dan Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Devi, R., Thakur, R., & Gupta, M. (2018). Isolation and molecular characterization of bacterial strains with antifungal activity from termite mound soil. *Int J Curr Microbiol App Sci*, 7(4), 1-7.
- Dita, M., Barquero, M., Heck, D., Mizubuti, E. S., & Staver, C. P. (2018). Fusarium wilt of banana: current knowledge on epidemiology and research needs toward sustainable disease management. *Frontiers in plant science*, 9, 1468.
- Doehlemann, G., Ökmen, B., Zhu, W., & Sharon, A. (2017). Plant pathogenic fungi. *The fungal kingdom*, 701-726.
- Dolezal, A. L., Shu, X., O'Brien, G. R., Nielsen, D. M., Woloshuk, C. P., Boston, R. S., & Payne, G. A. (2014). *Aspergillus flavus* infection induces transcriptional and physical changes in developing maize kernels. *Frontiers in microbiology*, 5, 384.
- Donner, M., Lichtemberg, P. S., Doster, M., Picot, A., Cotty, P. J., Puckett, R. D., & Michailides, T. J. (2015). Community

- structure of *Aspergillus flavus* and *A. parasiticus* in major almond-producing areas of California, United States. *Plant disease*, 99(8), 1161-1169.
- Duddu, M. K., & Guntuku, G. (2016). Isolation, screening and characterization of antibiotic producing actinomycetes from Kapuluppada plastic waste dumping yard, Visakhapatnam. *International journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 8(11), 221-229.
- Enagbonma, B. J., & Babalola, O. O. (2019a). Environmental sustainability: A review of termite mound soil material and its bacteria. *Sustainability*, 11(14), 3847.
- Enagbonma, B. J., & Babalola, O. O. (2019b). Potentials of termite mound soil bacteria in ecosystem engineering for sustainable agriculture. *Annals of Microbiology*, 69(3), 211-219.
- Faheem, M., Raza, W., Zhong, W., Nan, Z., Shen, Q., & Xu, Y. (2015). Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biological Control*, 81, 101-110.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1982. *Kimia Organik*, diterjemahkan oleh Pudjaatmakan, A. H., Edisi Ketiga, Jilid 2, 417-418, 454-455. Jakarta: Penerbit Erlangga

- Fisher, T. W., Bellows, T. S., Caltagirone, L. E., Dahlsten, D. L., Huffaker, C. B., & Gordh, G. (Eds.). (1999). *Handbook of biological control: principles and applications of biological control*. Elsevier.
- Fourie, G., Steenkamp, E. T., Ploetz, R. C., Gordon, T. R., & Viljoen, A. (2011). Current status of the taxonomic position of *Fusarium oxysporum formae specialis cubense* within the *Fusarium oxysporum* complex. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(3), 533-542.
- Gajbhiye, M. H., & Kapadnis, B. P. (2016). Antifungal-activity-producing lactic acid bacteria as biocontrol agents in plants. *Biocontrol science and technology*, 26(11), 1451-1470.
- Gava, C. A. T., & Pinto, J. M. (2016). Biocontrol of melon wilt caused by *Fusarium oxysporum* Schlect f. sp. *melonis* using seed treatment with *Trichoderma spp.* and liquid compost. *Biological Control*, 97, 13-20.
- Gerin, D., Nigro, F., Faretra, F., & Pollastro, S. (2020). Identification of *Arthrinium marii* as Causal Agent of Olive Tree Dieback in Apulia (Southern Italy). *Plant disease*, 104(3), 694-701.
- Ghuffar, S., Irshad, G., Ahmed, M. Z., Zeshan, M. A., Ali, R., Haq, E. U., Anwar, H. A., Abdullah, A., Ahmad, F., & Haque, K. (2020). First report of *Aspergillus flavus* causing fruit

- rot of grapes (*Vitis vinifera*) in Pakistan. *Plant Disease*, 104(11), 3062.
- Giacomazzi, S., Leroi, F., & Joffraud, F. (2004). Comparison of Three Methods of DNA Extraction from Cold-Smoke Salmon and Impact of Physical Treatments. *Journal of Applied Microbiology*, 1230-1238.
- González, V., Aguado, A. M., & Garcés-Claver, A. (2019). First report of *Fusarium oxysporum* causing wilt and root rot in common borage (*Borago officinalis*) in Spain. *Plant Disease*, 103(7), 1774-1774.
- Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* and the Fusarium wilt syndrome. *Annual review of phytopathology*, 55, 23-39.
- Green, M., & Sambrook, J. (2012). *Molecular Cloning a Laboratory Manual*. 4th ed. Vol. 1. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Guerrero-Barajas, C., Constantino-Salinas, E. A., Amora-Lazcano, E., Tlalapango-Ángeles, D., Mendoza-Figueroa, J. S., Cruz-Maya, J. A., & Jan-Roblero, J. (2020). *Bacillus mycoides* A1 and *Bacillus tequilensis* A3 inhibit the growth of a member of the phytopathogen *Colletotrichum gloeosporioides* species complex in avocado. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(10), 4049-4056.



- Guo, M., Pan, Y. M., Dai, Y. L., & Gao, Z. M. (2014). First report of brown blight disease caused by *Colletotrichum gloeosporioides* on *Camellia sinensis* in Anhui Province, China. *Plant Disease*, 98(2), 284-284.
- Gupte, M. D., & Kulkarni, P. R. (2002). A study of antifungal antibiotic production by *Streptomyces chattanoogensis* MTCC 3423 using full factorial design. *Letters in applied microbiology*, 35(1), 22-26.
- Gwa, V. I., & Akombo, R. A. (2016). Studies on the antimicrobial potency of five crude plant extracts and chemical fungicide in in vitro control of *Aspergillus flavus*, causal agent of white yam ( *Dioscorea rotundata*) tuber rot. *Journal of Plant Sciences and Agricultural Research*, 1(1), 1-8.
- Hakobyan, L., Gabrielyan, L., & Trchounian, A. (2012). Yeast extract as an effective nitrogen source stimulating cell growth and enhancing hydrogen photoproduction by *Rhodobacter sphaeroides* strains from mineral springs. *International Journal Of Hydrogen Energy*, 37(8), 6519-6526.
- Halpern, H. C., Bell, A. A., Wagner, T. A., Liu, J., Nichols, R. L., Olvey, J., Woodward, J. E., Sanogo, S., Jones, C. A., Chan, C. T. & Brewer, M. T. (2018). First report of Fusarium wilt of cotton caused by *Fusarium oxysporum* f. sp.

- vasinfectum* race 4 in Texas, USA. *Plant Disease*, 102(2), 446-446.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Terbitan Kedua. ITB Bandung.
- Harman, G. E., Jin, X., Stasz, T. E., Peruzzotti, G., Leopold, A. C., & Taylor, A. G. (1991). Production of conidial biomass of *Trichoderma harzianum* for biological control. *Biological control*, 1(1), 23-28.
- Harris, D. C. & Lucy, Charles A. (2016). *Quantitative chemical analysis ninth edition*. New York. W. H. Freeman and Company.
- Henry, P. M., Kirkpatrick, S. C., Islas, C. M., Pastrana, A. M., Yoshisato, J. A., Koike, S. T., Daugovish, O. & Gordon, T. R. (2017). The population of *Fusarium oxysporum f. sp. fragariae*, cause of Fusarium wilt of strawberry, in California. *Plant Disease*, 101(4), 550-556.
- Hou, Q., Bai, X., Li, W., Gao, X., Zhang, F., Sun, Z., & Zhang, H. (2018). Design of primers for evaluation of lactic acid bacteria populations in complex biological samples. *Frontiers in microbiology*, 9, 2045.
- Human, Z. R., Moon, K., Bae, M., De Beer, Z. W., Cha, S., Wingfield, M. J., Slippers, B., Oh, D-C., & Venter, S. N. (2016). Antifungal *Streptomyces spp.* associated with the

- infructescences of *Protea spp.* in South Africa. *Frontiers in microbiology*, 7, 1657.
- Hung, T. N., Hung, N. Q., Mostert, D., Viljoen, A., Chao, C. P., & Molina, A. B. (2018). First report of *Fusarium* wilt on Cavendish bananas, caused by *Fusarium oxysporum f. sp. cubense* tropical race 4 (VCG 01213/16), in Vietnam. *Plant Disease*, 102(2), 448-448.
- Islam, M. A., Nain, Z., Alam, M. K., Banu, N. A., & Islam, M. R. (2018). In vitro study of biocontrol potential of rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* against *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 28(1), 90.
- Jangir, M., Pathak, R., Sharma, S., & Sharma, S. (2018). Biocontrol mechanisms of *Bacillus sp.*, isolated from tomato rhizosphere, against *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Biological Control*, 123, 60-70.
- Jorgensen, O. B., Karlsen, L. G., Nielsen, N. B., Pedersen, S., & Rugh, S. (1988). A new immobilized glucose isomerase with high productivity produced by a strain of *Streptomyces murinus*. *Starch-Stärke*, 40(8), 307-313.
- Kant, P., Reinprecht, Y., Martin, C.J., Islam, R., Pauls, K.P. (2017) *Disease Resistance. Comprehensive Biotechnology* (Third Edition). Pergamon. Pages 789-805. ISBN

9780444640475. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809633-8.09244-X>.

- Kemenag RI. (2011). *Al- Qur'an dan Terjemahnya*. Jakarta: Adhi Aksara Abadi Indonesia.
- Khan, N., Martínez-Hidalgo, P., Ice, T. A., Maymon, M., Humm, E. A., Nejat, N., Sanders, E. R., Kaplan, D., & 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.
- Kim, J., Choi, K., & Chung, D. S. (2012). *Sample Preparation for Capillary Electrophoretic Applications*. Elsevier Inc.
- Komaki, H. (2021). Reclassification of *Streptomyces costaricanus* and *Streptomyces phaeogriseichromatogenes* as later heterotypic synonyms of *Streptomyces murinus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 71(2), 004638.
- Korb, J. (2003). Thermoregulation and ventilation of termite mounds. *Naturwissenschaften*, 90(5), 212-219.
- Korb, J. (2010). Termite mound architecture, from function to construction. *Biology of termites: a modern synthesis*, 349-373.
- Krishanti, N. P. R. A., Zulfina, D., Wikantyoso, B., Zulfitri, A., & Yusuf, S. (2018). Antimicrobial production by an

- actinomycetes isolated from the termite nest. *Journal of Tropical Life Science*, 8(3).
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular biology and evolution*, 33(7), 1870-1874.
- Leadbeater, A., McGrath, M., Wyenandt, C. A., & Stevenson, K. L. (2019). *An overview of fungicide resistance and resistance management: History and future trends. Fungicide Resistance in North America*. KL Stevenson, MT McGrath, and CA Wyenandt, eds. APS Press, St. Paul, MN. Link, 12.
- Leba, M. A. U. (2017). *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Liu, Y. H., Lin, T., Ye, C. S., & Zhang, C. Q. (2014). First Report of Fusarium Wilt in Blueberry (*Vaccinium corymbosum*) Caused by *Fusarium oxysporum* in China. *Plant disease*, 98(8), 1158-1158.
- Lu, D., Ma, Z., Xu, X., & Yu, X. (2016). Isolation and identification of biocontrol agent *Streptomyces rimosus* M527 against *Fusarium oxysporum f. sp. cucumerinum*. *Journal of basic microbiology*, 56(8), 929-933.

- Lucas, G. B., Campbell, C. L., & Lucas, L. T. (1992). *Introduction to plant diseases: identification and management*. Springer Science & Business Media.
- Madhaiyan, M., Saravanan, V. S., & See-Too, W. S. (2020). Genome-based analyses reveal the presence of 12 heterotypic synonyms in the genus *Streptomyces* and emended descriptions of *Streptomyces bottropensis*, *Streptomyces celluloflavus*, *Streptomyces fulvissimus*, *Streptomyces glaucescens*, *Streptomyces murinus*, and *Streptomyces variegatus*. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 70(6), 3924-3929.
- Madhusudhana, R. (2019). Genetics of Important Economic Traits in Sorghum. In *Breeding Sorghum for Diverse End Uses* (pp. 141-156). Woodhead Publishing.
- Manjula, A., Pushpanathan, M., Sathyavathi, S., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2015). Comparative analysis of microbial diversity in termite gut and termite nest using ion sequencing. *Current microbiology*, 72(3), 267-275.
- Manjula, A., Sathyavathi, S., Pushpanathan, M., Gunasekaran, P., & Rajendhran, J. (2014). Microbial diversity in termite nest. *Current Science*, 1430-1434.

- Manners, J. G. (1993). *Principles of plant pathology* (No. SB731. M3613 1988.). Cambridge University Press.
- Marathe, K., Naik, J., & Maheshwari, V. (2020). Biogenic synthesis of silver nanoparticles using *Streptomyces spp.* and their antifungal activity against *Fusarium verticillioides*. *Journal of Cluster Science*, 32(5), 1299-1309.
- Masiello, M., Somma, S., Ghionna, V., Logrieco, A. F., & Moretti, A. (2019). In vitro and in field response of different fungicides against *Aspergillus flavus* and *Fusarium* species causing ear rot disease of maize. *Toxins*, 11(1), 11.
- Masrukhin, M., Putri, A. L., Sulistiyani, T. R., Ilyas, M., Purwaningsih, I., Saskiawan, I., & Niam, M. Y. (2021). Antifungal Activity of Bacterial Isolates from Straw Mushroom Cultivation Medium against Phytopathogenic Fungi. *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 6(1), 59235.
- Maxam, A. M., & Gillbert, W. (1977). A New Method for Sequencing DNA. *Proceeding National Academic of Science USA*, 74: 560-564.
- McGovern, R. J. (2015). Management of tomato diseases caused by *Fusarium oxysporum*. *Crop Protection*, 73, 78-92.

- Misaghi, I. J. (2012). *Physiology and biochemistry of plant-pathogen interactions*. Springer Science & Business Media.
- Mohammed, A., & Chala, A. (2014). Incidence of *Aspergillus* contamination of groundnut (*Arachis hypogaea* L.) in Eastern Ethiopia. *African Journal of Microbiology Research*, 8(8), 759-765.
- Molina-Ramírez, C., Castro, M., Osorio, M., Torres-Taborda, M., Gómez, B., Zuluaga, R., Gómez, C., Gañán, P., Rojas, O.J., & Castro, C. (2017). Effect of different carbon sources on bacterial nanocellulose production and structure using the low pH resistant strain *Komagataeibacter medellinensis*. *Materials*, 10(6), 639.
- Nair, K. P. (2010). *The agronomy and economy of important tree crops of the developing world*. Elsevier Inc.
- Narayanasamy, P., (2013). *Detection and Identification of Fungal Biological Control Agents*. In *Biological Management of Diseases of Crops*. Dordrecht: Springer Netherlands.
- Nguyen, X. H., Naing, K. W., Lee, Y. S., Kim, Y. H., Moon, J. H., & Kim, K. Y. (2015). Antagonism of antifungal metabolites from *Streptomyces griseus* H7602 against *Phytophthora capsici*. *Journal of basic microbiology*, 55(1), 45-53.



- Nirmaladevi, D., Venkataramana, M., Srivastava, R. K., Uppalapati, S. R., Gupta, V. K., Yli-Mattila, Tsui, K. M. C., Srinivas, C., Niranjana, S.R. & Chandra, N. S. (2016). Molecular phylogeny, pathogenicity and toxigenicity of *Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici*. *Scientific reports*, 6(1), 1-14.
- Noirot, C., & Darlington, J. P. (2000). *Termite nests: architecture, regulation and defence*. In *Termites: evolution, sociality, symbioses, ecology* (pp. 121-139). Springer, Dordrecht.
- O'Brien, P. A. (2017). *Biological control of plant diseases*. *Australasian Plant Pathology*, 46(4), 293-304.
- Okayo, R. O., Andika, D. O., Dida, M. M., K'Otuto, G. O., & Gichimu, B. M. (2020). Morphological and Molecular Characterization of Toxigenic *Aspergillus flavus* from Groundnut Kernels in Kenya. *International Journal of Microbiology*, 2020.
- Pawirosoemardjo, S & Suwanto, 1996. Pengendalian Terpadu Penyakit Gugur Daun *Colletotrichum* Pada Tanaman Karet. *Warta Pusat Penelitian Karet*, vol 15 no 3 Asosiasi Penelitian Perkebunan Indonesia.
- Pegg, K. G., Coates, L. M., O'Neill, W. T., & Turner, D. W. (2019). The epidemiology of *Fusarium* wilt of banana. *Frontiers in plant science*, 10, 1395.

- Peng, C., An, D., Ding, W. X., Zhu, Y. X., Ye, L., & Li, J. (2020). Fungichromin production by *Streptomyces* sp. WP-1, an endophyte from *Pinus dabeshanensis*, and its antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 104(24), 10437-10449.
- Ploetz, R. C. (2006). Fusarium-induced diseases of tropical, perennial crops. *Phytopathology*, 96(6), 648-652.
- Purnomo, E., & Mukarlina, R. (2017). Uji Antagonis Bakteri *Streptomyces* spp. terhadap Jamur *Phytophthora palmivora* BBK01 Penyebab Busuk Buah pada Tanaman Kakao. *Protobiont*, 6(2).
- Putri, A. L., Purbani, D. C., Kanti, A., Kusmiati, M., & Habibi, M. (2020). Isolation and Identification of Actinomycetes Associated with Moss on the Surface of the Borobudur Temple Stone. *Biosaintifika: Journal of Biology & Biology Education*, 12(1), 10-20.
- Rishad, K. S., Rebello, S., Shabanamol, P. S., & Jisha, M. S. (2017). Biocontrol potential of halotolerant bacterial chitinase from high yielding novel *Bacillus pumilus* MCB-7 autochthonous to mangrove ecosystem. *Pesticide biochemistry and physiology*, 137, 36-41.

- Rózewicz, M., Wyzińska, M., & Grabiński, J. (2021). The Most Important Fungal Diseases of Cereals—Problems and Possible Solutions. *Agronomy*, 11(4), 714.
- Rusli, I. & Zulpadli M. (1997). Penyakit Antraknosa pada Buah Cabai di Sumatera Barat. *Prosiding Kongres Nasional XIV dan Seminar Ilmiah Perhimpunan Fitopatologi Indonesia*, Palembang, 187 – 190.
- Ruttanasutja, P., & Pathom-aree, W. (2015). Selective isolation of cultivable actinomycetes from thai coastal marine sediment. *Chiang Mai J Sci*, 42(1), 89-104.
- Saitou, N., & Nei, M. (1987). The neighbor-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular biology and evolution*, 4(4), 406-425.
- Sakinah, M. I., Suzianti, I. V., & Latiffah, Z. (2014). Phenotypic and molecular characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose of banana (*Musa spp*) in Malaysia. *Genetics and Molecular Research*, 13(2), 3627-3637.
- Sanger, F., Nicklen, S., & Coulson, A. R. (1977). DNA Sequencing with Chain Terminating Inhibitors. *Proceeding of The National Academy of Science USA*, 74: 5463-5347.
- Saravanakumar, D., Thomas, A., & Banwarie, N. (2019). Antagonistic potential of lipopeptide producing

- Bacillus amyloliquefaciens* against major vegetable pathogens. *European Journal of Plant Pathology*, 154(2), 319-335.
- Sari, R. P. (2018). Gambaran Penggunaan Alat Pelindung Diri, Jumlah Jenis Pestisida dan Kejadian Keracunan Pestisida pada Petani Hortikultura di Pekon Srikaton Kecamatan Adiluwih Kabupaten Pringsewu. Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung. [Skripsi]
- Schaeffer, R. N., Vannette, R. L., Brittain, C., Williams, N. M., & Fukami, T. (2017). Non-target effects of fungicides on nectar-inhabiting fungi of almond flowers. *Environmental microbiology reports*, 9(2), 79-84.
- Scholthof, K. B. G. (2007). The disease triangle: pathogens, the environment and society. *Nature Reviews Microbiology*, 5(2), 152-156.
- Sebastião, F. A., Furlan, L. R., Hashimoto, D. T., & Pilarski, F. (2015). Identification of bacterial fish pathogens in Brazil by direct colony PCR and 16S rRNA gene sequencing. *Advances in Microbiology*, 5(06), 409.
- Sekhar, Chinniah & Arumugam, Vidhyavathi. (2019). *Termites book*. New Delhi, India: AkiNik Publications.
- Semangun, H. (2008). *Penyakit Penyakit Tanaman Pangan Indonesia*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.

- Shahid, M., Singh, B. N., Verma, S., Choudhary, P., Das, S., Chakdar, H., Murugan, K., Goswami, S. K., & Saxena, A. K. (2021). Bioactive antifungal metabolites produced by *Streptomyces amritsarensis* V31 help to control diverse phytopathogenic fungi. *Brazilian Journal of Microbiology*, 1-13.
- Shakeel, Q., Lyu, A., Zhang, J., Wu, M., Li, G., Hsiang, T., & Yang, L. (2018). Biocontrol of *Aspergillus flavus* on peanut kernels using *Streptomyces yanglinensis* 3-10. *Frontiers in microbiology*, 9, 1049.
- Sharma, M., & Kulshrestha, S. (2015). *Colletotrichum gloeosporioides*: an anthracnose causing pathogen of fruits and vegetables. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 12(2), 1233-1246.
- Sharma, P., & Thakur, D. (2020). Antimicrobial biosynthetic potential and diversity of culturable soil actinobacteria from forest ecosystems of Northeast India. *Scientific reports*, 10(1), 1-18.
- Shimadzu. (2020). *Shimadzu's Fundamental Guide to Gas Chromatography Mass Spectrometry (GCMS)*. Kyoto: Shimadzu Corporation
- Singh, H. P., Batish, D. R., Kaur, S., Kohli, R. K., & Arora, K. (2006). Phytotoxicity of the volatile monoterpene citronellal

- against some weeds. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 61(5-6), 334-340.
- Singh, R.S. 1998. *Plant Disease 2nd Edition*. Oxford IBH Publishing, New Delhi.
- Snyder, L. R. (1974). Classification of the solvent properties of common liquids. *Journal of Chromatography A*, 92(2), 223-230.
- Sudiana, I. M., Putri, A., Napitupulu, T. P., Purnaningsih, I., & Kanti, A. (2020). Growth inhibition of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* by *Streptomyces sasae* TG01, and its ability to solubilize insoluble phosphate. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 21(2).
- Sujada, N., Sungthong, R., & Lumyong, S. (2014). Termite nests as an abundant source of cultivable actinobacteria for biotechnological purposes. *Microbes and environments*, ME13183.
- Surzycki, S. (2000). *Basic Techniques in Molecular Biology*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer-Verlag.
- Tampakaki, A. P., Hatziloukas, E., & Panopoulos, N.J. (2009). *Encyclopedia of Microbiology (Third Edition): Plant Pathogens (Bacterial)*. Elsevier Academic Press. Pages 655-677. ISBN 9780123739445. <https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00346-1>.

- Tamura, K. (1992). Estimation of the number of nucleotide substitutions when there are strong transition-transversion and G+ C-content biases. *Mol Biol Evol*, 9(4), 678-687.
- Tarigan, S & Wiryanta, W. (2003). *Bertanam Cabai Hibrida Secara Intensif*. Jakarta: Agromedia Pustaka.
- Tata, S., Yekkour, A., Mokrane, S., Chaouch, F. C., Bouras, N., & Sabaou, N. (2018). Influence Of Culture Media On Antifungal Activity Produced By *Streptomyces Sp.* Pal114 Isolated From Ghardaia Date Palm Grove Soils. *African Review of Science, Technology and Development*, 3(2), 22-29.
- Thathana, M. G., Murage, H., Abia, A. L. K., & Pillay, M. (2017). Morphological characterization and determination of aflatoxin-production potentials of *Aspergillus flavus* isolated from maize and soil in Kenya. *Agriculture*, 7(10), 80.
- Tian, S., Qin, G., & Li, B. (2011). Loquat (*Eriobotrya japonica* L.). In *Postharvest biology and technology of tropical and subtropical fruits* (pp. 424-444e). Woodhead Publishing.
- Tijjani, A., Adebitan, S. A., Gurama, A. U., Aliyu, M., Harunam, S. G., & Mohammad, G. U. (2014a). In vitro and In vivo efficacy of some plant extracts for the control of

- tomato fruit rot caused by *Aspergillus flavus*. *Int. J. Sci. Res. Public*, 4, 1-5.
- Tijjani, A., Adebitan, S. A., Gurama, A. U., Haruna, S. G., & Safiya, T. (2014b). Effect of some selected plant extracts on *Aspergillus flavus*, a causal agent of fruit rot disease of tomato (*Solanum lycopersicum*) in Bauchi State. *International Journal of Biosciences*, 4(2), 244-252.
- Tissue, B. M. (2013). *Basics of analytical chemistry and chemical equilibria* (pp. 103-140). Hoboken, NJ: Wiley.
- Ubaidillah, R., & Sutrisno, H. (2012). *Pengantar Biosistematika: Teori dan Praktik*. Bogor: LIPI.
- Ullah, N., Akhtar, K. P., ul Hassan, S. W., Asi, M. R., & Sadeq, Y. (2019). First report of molecular characterization of *Aspergillus flavus* from maize in Pakistan. *Journal of Plant Pathology*, 101(4), 1289-1290.
- Vlajkov, V., Grahovac, M., Budakov, D., Loc, M., Pajčin, I., Milić, D., Novaković, T., & Grahovac, J. (2021). Distribution, Genetic Diversity and Biocontrol of Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* in Serbian Maize Fields. *Toxins*, 13(10), 687.
- Wei, Y., Bu, J., Long, H., Zhang, X., Cai, X., Huang, A., Ren, W., & Xie, Z. (2021). Community structure of protease-producing bacteria cultivated from aquaculture



- systems: potential impact of a tropical environment. *Frontiers in microbiology*, 12, 40.
- Yang, J., Hsiang, T., Bhadauria, V., Chen, X.L., Li, G. (2017). Plant Fungal Pathogenesis. *BioMed Research International*. <https://doi.org/10.1155/2017/9724283>.
- Yang, M., Lu, L., Pang, J., Hu, Y., Guo, Q., Li, Z., ... & Wang, C. (2019). Biocontrol activity of volatile organic compounds from *Streptomyces alboflavus* TD-1 against *Aspergillus flavus* growth and aflatoxin production. *Journal of Microbiology*, 57(5), 396-404.
- Yoon, S. H., Ha, S. M., Kwon, S., Lim, J., Kim, Y., Seo, H., & Chun, J. (2017). Introducing EzBioCloud: a taxonomically united database of 16S rRNA gene sequences and whole-genome assemblies. *International journal of systematic and evolutionary microbiology*, 67(5), 1613.
- Yuan, S., Li, M., Fang, Z., Liu, Y., Shi, W., Pan, B., Wu, K., Shi, J., Shen, B., & Shen, Q. (2016). Biological control of tobacco bacterial wilt using *Trichoderma harzianum* amended bioorganic fertilizer and the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus mosseae*. *Biological control*, 92, 164-171.
- Yuliar, Y. (2008). Screening of bioantagonistic bacteria for biocontrol agent of *Rhizoctonia solani* and surfactin

- producer. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 9(2).
- Yuniarti, Y. Kajian Pemanfaatan Ekstrak Kulit *Acacia mangium* Willd. Sebagai Antifungi dan Pengujiannya Terhadap *Fusarium sp.* dan *Ganoderma sp.*. *Jurnal Sains dan Terapan Kimia*, 4(2), 190-198.
- Zaim, S., Bekkar, A. A., & Belabid, L. (2018). Efficacy of *Bacillus subtilis* and *Trichoderma harzianum* combination on chickpea Fusarium wilt caused by *F. oxysporum f. sp. ciceris*. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 51(3-4), 217-226.
- Zhang, C. Q., Zhang, S. Y., Chen, X. L., Qi, Q. Q., & Lou, H. Z. (2016). First report of fusarium crown and root rot on *Torreya grandis* caused by *Fusarium oxysporum* species complex in China. *Plant Disease*, 100(7), 1500-1500.
- Zhang, J., & Hu, B. (2013). *Liquid-Liquid Extraction (LLE)*. Separation and purification technologies in biorefineries first edition, 61-78. John Wiley & Sons, Ltd
- Zhang, K., Gu, L., Zhang, Y., Liu, Z., & Li, X. (2020). Dinactin from a new producer, *Streptomyces badius* gz-8, and its antifungal activity against the rubber anthracnose

fungus *Colletotrichum gloeosporioides*.  
*Microbiological Research*, 240, 126548.

- Zhang, Y., & Ma, L. J. (2017). Deciphering pathogenicity of *Fusarium oxysporum* from a phylogenomics perspective. In *Advances in Genetics* (Vol. 100, pp. 179-209). Academic Press.
- Zhao, Y., Liang, Y., Liu, L., Cheng, J., & Yuan, Y. (2017). Medium optimization for antifungal active substance production from *Streptomyces lydicus* using response surface methodology. *Transactions of Tianjin University*, 23(1), 78-86.
- Zubrod, J. P., Bundschuh, M., Arts, G., Brühl, C. A., Imfeld, G., Knäbel, A., Payraudeau, S., Rasmussen, J.J., Rohr, J., Scharmüller, A., Smalling, K., Stehle, S., Schulz, R., & Schäfer, R. B. (2019). Fungicides: an overlooked pesticide class?. *Environmental science & technology*, 53(7), 3347-3365.



## LAMPIRAN

### Lampiran 1

Tabel hasil skrining 18 Isolat yang potensial

No	Isolat Bakteri	Fungi Uji		
		A. flavus (F23)	C. gloeosporioides (F345)	F. oxysporum (F641)
1	A4	0	1,5 cm	1 cm
2	B2	0,5 cm	1,3 cm	1 cm
3	B3	0,9 cm	1,6 cm	1,2 cm
<b>4</b>	<b>B7</b>	<b>1 cm</b>	<b>1,6 cm</b>	<b>1,3 cm</b>
5	B8	0,4 cm	1,6 cm	1 cm
6	B9	0,2 cm	1 cm	0,9 cm
7	B10	0 cm	1,6 cm	0,9 cm
8	B11	0 cm	1,2 cm	0,5 cm
9	B12	0,6 cm	1,3 cm	0,9 cm
10	<b>B13</b>	<b>1,1 cm</b>	<b>1,5 cm</b>	<b>1 cm</b>
11	B14	0 cm	1 cm	0,7 cm
12	B15	0,8 cm	1,4 cm	1 cm
13	<b>B16</b>	<b>1,4 cm</b>	<b>1,5 cm</b>	<b>1,3 cm</b>
14	B17	0 cm	1,3 cm	1 cm
15	B18	0,85 cm	1,5	0,7 cm
16	B20	0,2 cm	1,2 cm	1 cm
17	B21	1 cm	1,3 cm	1 cm
18	B22	0,3 cm	1,2 cm	1,1 cm

### Lampiran 2

Tabel Hasil Analisis Sekuen gen 16S rRNA

Kode Isolat	Strain	Urutan DNA
B7		CTTACCATGCAAGTCGAACGATGAAGCCCTTC GGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC ACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAA

Kode Isolat	Strain	Urutan DNA
		<p>GCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATATG  ACCATCTTGGGCATCCTTGATGGTGTAAAGC  TCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTATC  AGCTTGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGG  CGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGAC  CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC  TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC  ACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCC  GCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAAA  CCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGAC  GGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTAC  GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGC  AAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGA  GCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGATTGTGA  AAGCTCGGGGCTTAACCCCGAGTCTGCAGTCG  ATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGA  TCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC  AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGC  GGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAG  CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA  CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGAAC  TAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGC  CGCAGCTAACGCATTAGTTCGCCGCCTGGGGA  GTA CTGCCGCAAGGCTTTA</p>
B13		<p>CTTACCATGCAAGTCGAACGCATGAAGCCCTT  CGGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAA  CACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACA  AGCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATAT  GACCATCTTGGGCATCCTTGATGGTGTAAAG  CTCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGGCCTAT  CAGCTTGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAG  GCGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGA  CCGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGA  CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTG</p>

Kode Isolat	Strain	Urutan DNA
		CACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGC CGCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTAA ACCTCTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAAGTGA CGGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTA CGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGC AAGCGTTGTCCGAATTATTGGGCGTAAAGA GCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGATTGTGA AAGCTCGGGGCTTAACCCCGAGTCTGCAGTCG ATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGA TCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGC GGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAG CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGAAC TAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGC CGCAGCTAACGCATTAAGTTCCTCCCGCCTGGGG AGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAA TTGACGGGGGCCCCGCACAAGCGGCGGAGCAT GTGGCTTAATTTCGACGCAACGCGAAGAACCT TACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCATT AGAGATAGTGCCCCCTTGTGGTCGGTGTACA GGTGGTGCATGGCTGTCTGTCAGCTCGTGTCTGT GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC AACCCCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCCCTTG TGGTGTGGGGACTCACGGGAGACCGCCGGG GTCAACTCGGAGGAAGGTGGGACGACGTCAA GTCATCATGCCCCCTTATGTCTTGGGCTGC
B16		CTTACCATGCAAGTCGAACGATGAAGCCCTTC GGGGTGGATTAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC ACGTGGGCAATCTGCCCTGCACTCTGGGACAA GCCCTGGAAACGGGGTCTAATACCGGATATG ACCATCTTGGGCATCCTTGATGGTGTAAAGC TCCGGCGGTGCAGGATGAGCCCGCGCCTATC AGCTTGTTGGTGAGGTAATGGCTCACCAAGG

Kode Isolat	Strain	Urutan DNA
		CGACGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGCGAC CGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC TCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGC ACAATGGGCGAAAGCCTGATGCAGCGACGCC GCGTGAGGGATGACGGCCTTCGGGTTGTA CCTCTTTTCAGCAGGGAAGAAGCGAAAGTGAC GGTACCTGCAGAAGAAGCGCCGGCTAACTAC GTGCCAGCAGCCGCGTAATACGTAGGGCGC AAGCGTTGTCCGGAATTATTGGGCGTAAAGA GCTCGTAGGCGGCTTGTACGTCGATTGTGA AAGCTCGGGGCTTAACCCCGAGTCTGCAGTCG ATACGGGCTAGCTAGAGTGTGGTAGGGGAGA TCGGAATTCCTGGTGTAGCGGTGAAATGCGC AGATATCAGGAGGAACACCGGTGGCGAAGGC GGATCTCTGGGCCATTACTGACGCTGAGGAG CGAAAGCGTGGGGAGCGAACAGGATTAGATA CCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGGTGGGAAC TAGGTGTTGGCGACATTCCACGTCGTCGGTGC CGCAGCTAACGCATTAAGTCCCCGCCTGGGG AGTACGGCCGCAAGGCTAAAACCTCAAAGGAA TTGACGGGGGCCCCGACAAGCGGCGGAGCAT GTGGCTTAATTGACGCAACGCGAAGAACCT TACCAAGGCTTGACATACACCGGAAAGCATT AGAGATAGTGCCCCCTTGTGGTCGGTGTACA GGTGGTGCATGGCTGTGTCAGCTCGTGTGCT GAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGC AACCTTGTCCCGTGTGCCAGCAGGCCCTTG TGGTGCTGGGGACTCACGGGAAACCGCCGGG GTCAACTCGGAAGAAGGTGGGGACGACGTCA AGTCATCATG



### Lampiran 3

Tabel hasil analisis *anova single factor* dan uji lanjut BNT 5% pada luas pertumbuhan misleium fungi uji

F23

Perlakuan	KONTROL	B7	B13	B16
Ulangan 1	43.122	28.849	35.063	26.469
Ulangan 2	42.776	30.14	17.572	28.178

*Anova Single Factor (Summary)*

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
KONTROL	2	85.898	42.949	0.059858
B7	2	58.989	29.4945	0.833341
B13	2	52.635	26.3175	152.9675
B16	2	54.647	27.3235	1.460341

*Anova Single Factor*

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	358.802609	3	119.6009	3.080094	0.15278	6.591382
Within Groups	155.32108	4	38.83027			
Total	514.123689	7				

H0: Fhit&lt;Ftab

H1: Fhit&gt;Ftab

Luas Pertumbuhan miselium fungi F23 ( dalam cm2)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
Kontrol	43.122	42.776	85.898	42.949
B7	28.849	30.14	58.989	29.4945
B13	35.063	17.572	52.635	26.3175
B16	26.469	28.178	54.647	27.3235
<b>GRAND TOTAL</b>			<b>252.169</b>	<b>31.521125</b>

FK: 7948.65057

KK: 0.197689451

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	3	358.8026	119.6009	3.0800937	6.591382	16.69437	TN
GALAT	4	155.3211	38.83027				
TOTAL	7	514.1237					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)

F23

BNT 5%: 17.30112308

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI	
Kontrol	42.949	a	
B7	29.4945	a	13.4545
B16	27.3235	a	15.6255
B13	26.3175	a	16.6315

F345

Perlakuan	KONTROL	B7	B13	B16
Ulangan 1	37.993	12.787	16.322	9.61
Ulangan 2	35.401	5.16	11.14	9.439

*Anova Single Factor (Summary)*

Groups	Count	Sum	Average	Variance
KONTROL	2	73.394	36.697	3.359232
B7	2	17.947	8.9735	29.08556
B13	2	27.462	13.731	13.42656
B16	2	19.049	9.5245	0.01462

*Anova Single Factor*

Source of Variation	SS	df	MS	F	P-value	F crit
Between Groups	1037.503	3	345.8344	30.14728	0.003316	6.591382
Within Groups	45.88598	4	11.47149			
Total	1083.389	7				

H0: Fhit < Ftab

H1: Fhit > Ftab

Luas Pertumbuhan miselium fungi F345 ( dalam cm<sup>2</sup>)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
Kontrol	37.993	35.401	73.394	36.697
B7	12.787	5.16	17.947	8.9735
B13	16.322	11.14	27.462	13.731
B16	9.61	9.439	19.049	9.5245
<b>GRAND TOTAL</b>			<b>137.852</b>	<b>17.2315</b>

FK: 2375.396738

KK: 0.196556279

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	3	1037.503	345.8344	30.1472833	6.591382	16.69437	**
GALAT	4	45.88598	11.47149				
TOTAL	7	1083.389					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)

F345

BNT 5%: 9.403707164

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI	
Kontrol	36.697	a	
B13	13.731	b	22.966
B16	9.5245	b	4.2065
B7	8.9735	b	4.7575

F641

Perlakuan	KONTROL	B7	B13	B16
Ulangan 1	37.335	29.511	24.178	26.949
Ulangan 2	47.701	30.37	23.888	26.494

*Anova Single Factor (Summary)*

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
KONTROL	2	85.036	42.518	53.72698
B7	2	59.881	29.9405	0.368941
B13	2	48.066	24.033	0.04205
B16	2	53.443	26.7215	0.103513

*Anova Single Factor*

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	400.9533	3	133.6511	9.856008	0.025541	6.591382
Within Groups	54.24148	4	13.56037			
Total	455.1948	7				

H0:  $F_{hit} < F_{tab}$

H1:  $F_{hit} > F_{tab}$

Luas Pertumbuhan miselium fungi F641 ( dalam cm<sup>2</sup>)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
Kontrol	37.335	47.701	85.036	42.518
B7	29.511	30.37	59.881	29.9405
B13	24.178	23.888	48.066	24.033
B16	26.949	26.494	53.443	26.7215
<b>GRAND TOTAL</b>			<b>246.426</b>	<b>30.80325</b>

FK: 7590.721685

KK: 0.119547152

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	3	400.9533	133.6511	9.85600784	6.591382	16.69437	*
GALAT	4	54.24148	13.56037				
TOTAL	7	455.1948					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)



F641

BNT 5%: 10.22409474

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI	
Kontrol	42.518	a	
B13	29.9405	b	12.5775
B16	26.7215	b	3.219
B7	24.033	b	5.9075

#### Lampiran 4

Tabel hasil analisis anova single factor dan uji lanjut BNT 5% padapersentase penghambatan pertumbuhan misleium fungi uji

F23

Perlakuan	B7	B13	B16
Ulangan 1	32.83	18.36	38.37
Ulangan 2	29.82	59.09	34.39

#### Anova Single Factor (Summary)

Groups	Count	Sum	Average	Variance
B7	2	62.65338	31.32669	4.517689

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
B13	2	77.44767	38.72384	829.2647
B16	2	72.76304	36.38152	7.91677

*Anova Single Factor*

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	57.17035	2	28.58517	0.101884	0.90613	9.552094
Within Groups	841.6991	3	280.5664			
Total	898.8695	5				

H0:  $F_{hit} < F_{tab}$

H1:  $F_{hit} > F_{tab}$

Persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi F23 ( dalam cm<sup>2</sup>)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
B7	32.83	29.82	62.65	31.33
B13	18.36	59.09	77.45	38.72384
B16	38.37	34.39	72.76	36.38152

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
GRAND TOTAL			<b>212.8641</b>	<b>35.47735</b>

FK: 7551.853797

KK: 0.472135497

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	2	57.17035	28.58517	0.101884	9.552094	30.81652	TN
GALAT	3	841.6991	280.5664				
TOTAL	5	898.8695					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)

F23

BNT 5%: 53.30634435

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI
B13	38.72384	a
B16	36.38152	a
B7	31.32669	a

F345

Perlakuan	B7	B13	B16
Ulangan 1	65.16	85.94	73.81
Ulangan 2	85.94	69.64	74.28

*Anova Single Factor (Summary)*

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
B7	2	151.0941	75.54705	215.9814
B13	2	155.5822	77.7911	132.7735
B16	2	148.0911	74.04556	0.108568

*Anova Single Factor*

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	14.21286	2	7.106428	0.061111	0.94186	9.552094
Within Groups	348.8634	3	116.2878			
Total	363.0763	5				

H0: Fhit < Ftab

H1: Fhit > Ftab

Persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi F345 ( dalam cm<sup>2</sup>)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
B7	65.16	85.94	151.09	75.55
B13	85.94	69.64	155.58	77.7911
B16	73.81	74.28	148.09	74.04556
<b>GRAND TOTAL</b>			<b>454.7674</b>	<b>75.79457</b>

FK: 34468.901

KK: 0.142275134

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	2	14.21286	7.106428	0.061111	9.552094	30.81652	TN
GALAT	3	348.8634	116.2878				
TOTAL	5	363.0763					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)

F345

BNT 5%: 53.30634435

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI	
B13	77.7911	a	
B7	75.54705	a	2.244053
B16	74.04556	a	3.745538

F641

Perlakuan	B7	B13	B16
Ulangan 1	30.59	43.13	36.62
Ulangan 2	28.57	43.82	37.69

*Anova Single Factor (Summary)*

<i>Groups</i>	<i>Count</i>	<i>Sum</i>	<i>Average</i>	<i>Variance</i>
B7	2	59.16318	29.58159	2.040848
B13	2	86.95141	43.4757	0.232606
B16	2	74.305	37.1525	0.572594

*Anova Single Factor*

<i>Source of Variation</i>	<i>SS</i>	<i>df</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>P-value</i>	<i>F crit</i>
Between Groups	193.5654	2	96.78268	102.018	0.001744	9.552094
Within Groups	2.846048	3	0.948683			
Total	196.4114	5				

H0: Fhit < Ftab

H1: Fhit > Ftab

Persentase penghambatan pertumbuhan miselium fungi F641 ( dalam cm<sup>2</sup>)

PERLAKUAN	Ulangan		TOTAL	RERATA
	I	II		
B7	30.59	28.57	59.16	29.58
B13	43.13	43.82	86.95	43.4757
B16	36.62	37.69	74.31	37.1525
<b>GRAND TOTAL</b>			<b>220.4196</b>	<b>36.7366</b>

FK: 8097.465722

KK: 0.026513165

Tabel Anova

SK	DB	JK	KT	FHit	FTab		KET
					0.05	0.01	
PERLAKUAN	2	193.5654	96.78268	102.018	9.552094	30.81652	TN
GALAT	3	2.846048	0.948683				
TOTAL	5	196.4114					

Ket: TN (Perbedaan Tidak Nyata), \*(Perbedaan Nyata), \*(Perbedaan Sangat Nyata)

F345

BNT 5%: 3.099713721

PERLAKUAN	RERATA	NOTASI	
B13	43.4757	a	
B16	37.1525	b	6.323204
B7	29.58159	c	7.570911



## RIWAYAT HIDUP

### A. Identitas Diri

1. Nama : Muhammad Yusrun Niam
2. Tempat : Jepara, 10 November 1997  
&  
Tanggal  
Lahir
3. Alamat : Ds. Demangan RT 09/RW 02, Kec.  
Rumah Tahunan, Kab. Jepara
4. Hp : 081515675912
5. E-mail : [yusrunniam97@gmail.com](mailto:yusrunniam97@gmail.com)  
[muhammadyusrunniam.1708016033@student.walisongo.ac.id](mailto:muhammadyusrunniam.1708016033@student.walisongo.ac.id)

### B. Riwayat Pendidikan

#### 1. Pendidikan Formal

Instansi	Tahun Lulus
TK Mafatikhul Akhaq Demangan, Tahunan, Jepara	2004
SDN Mangunan, Tahunan, Jepara	2010
MTs. Matholi'ul Huda Bugel, Kedung, Jepara	2013
MA Al-isti'anah Boarding School, Plangitan, Pati	2016
UIN Walisongo Semarang	2021

#### 2. Pendidikan Nonformal

Instansi	Tahun Lulus
TPQ Mafatikhul Akhlaq, Demangan, Tahunan, Jepara	2005
Madrasah Diniyyah Mafatikhul Akhlaq, Demangan, Tahunan, Jepara	2011

Instansi	Tahun Lulus
Pondok Pesantren Al- Isti'anah Plangitan Pati	2017