



Nur P

**KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN**

Jalan Prof. Dr. Bunyamin No. 708 Kotak Pos 115 – Purwokerto 53122
Telepon (0281) 635292, 635293, 638795 - Fax. (0281) 631737, 631802
Laman : www.unsoed.ac.id

**KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
NOMOR 1067/UN23/HK.02/2021**

TENTANG

**PELAKSANA PENELITIAN SKEMA RISET TERAPAN
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN TAHUN ANGGARAN 2021**

REKTOR UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN,

- Menimbang** : a. bahwa perguruan tinggi mempunyai tugas menyelenggarakan pendidikan, penelitian, dan pengabdian kepada masyarakat;
b. bahwa untuk memenuhi kualitas dan kuantitas penelitian di Universitas Jenderal Soedirman, maka perlu dilakukan penelitian secara kompetitif dan memenuhi standar mutu;
c. bahwa untuk itu perlu diangkat pelaksana Penelitian Skema Riset Terapan dengan Keputusan Rektor Universitas Jenderal Soedirman;
- Mengingat** : 1. Undang-undang RI Nomor 5 Tahun 2014 tentang Aparatur Sipil Negara;
2. Undang-undang RI Nomor 20 Tahun 2003 tentang Sistem Pendidikan Nasional;
3. Undang-undang RI Nomor 12 Tahun 2012 tentang Pendidikan Tinggi;
4. Peraturan Pemerintah RI Nomor 4 Tahun 2014 tentang Penyelenggaraan Pendidikan Tinggi dan Pengelolaan Perguruan Tinggi;
5. Keputusan Presiden Republik Indonesia Nomor 195 Tahun 1963 jo Kept. Menteri PTIP No. 153 Tahun 1963 tentang Pendirian Unsoed;
6. Peraturan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi Nomor 28 Tahun 2017 tanggal 10 April 2017 tentang Statuta Universitas Jenderal Soedirman;
7. Peraturan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 10 Tahun 2016 jo Nomor 23 Tahun 2017 tentang Organisasi dan Tata Kerja Unsoed;
8. Peraturan Menteri Keuangan RI Nomor 112/PMK.02/2020 tentang Standar Biaya Keluaran (SBK) Tahun Anggaran 2021;
9. Keputusan Menteri Riset, Teknologi, dan Pendidikan Tinggi RI Nomor 222/M/KPT.KP/2018 tanggal 30 April 2018 tentang Pemberhentian dan Pengangkatan Rektor Universitas Jenderal Soedirman Periode Tahun 2018 – 2022 ;

MEMUTUSKAN :

- Menetapkan : KEPUTUSAN REKTOR UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN TENTANG PELAKSANA PENELITIAN SKEMA RISET TERAPAN UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN TAHUN ANGGARAN 2021.
- KESATU : Menugaskan kepada dosen yang namanya tercantum dalam lampiran keputusan ini untuk melaksanakan penelitian yang judul, biaya, waktu dan tugas dalam penelitian masing-masing termaktub dalam keputusan ini selanjutnya disebut "Peneliti"
- KEDUA : Dalam melaksanakan tugasnya "Peneliti" membuat laporan dan bertanggung jawab kepada Rektor Universitas Jenderal Soedirman.
- KETIGA : Penelitian dilakukan selama 9 (Sembilan) bulan mulai 15 Maret 2021 sampai dengan 30 November 2021.
- KEEMPAT : Biaya pelaksanaan penelitian dibebankan kepada DIPA BLU LPPM Unsoed.
- KELIMA : Keputusan ini mulai berlaku pada tanggal ditetapkan.

Ditetapkan di Purwokerto
Pada Tanggal, 5 Mei 2021



LAMPIRAN
KEPUTUSAN REKTOR
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
NOMOR 1067/UN23/HK.02/2021
TANGGAL 5 MEI 2021
TENTANG
PELAKSANA PENELITIAN SKEMA RISET TERAPAN
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN TAHUN ANGGARAN 2021

No	Personalia	Jabatan	Judul Penelitian	Dana Disetujui (Rp)	Fakultas
1	Adi Indrayanto Rasyid Mei Mustafa Nur Chasanah Aldila Krisnaresanti	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Pengembangan Model Customer Relationship Management (CRM) pada Pengelolaan Pelanggan Gula Kelapa Organik KUB Central Agro Lestari Purbalingga	42,200,000	Ekonomi Dan Bisnis
2	Agatha Sih Piranti Slamet Santoso	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Pemanfaatan Mikroalga Untuk Bahan Biofuel Sebagai Alternatif Pengendalian Eutrofikasi Di Telaga Menjer Wonosobo	37,750,000	Biologi
3	Agnes Fitria Widiyanto Suratman Kuswanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Aplikasi Teknologi Pengelolaan Sampah Melalui Penguatan Budaya Kearifan Lokal Sebagai Upaya Penanggulangan Di Era Pandemic	37,750,000	Ilmu Kesehatan
4	Agus Maryoto Rachmad Setijadi Nor Intang Setyo Hermanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Kontribusi Calcium Stearate Terhadap Tegangan Lekat Tulangan Pada Beton Self Compacting Concrete Dengan Bahan Pengikat Portland Pozzoland Cement Dan Fly Ash	45,750,000	Teknik
5	Agus Nuryanto Farida Nur Rachmawati Moh. Husein Sastranegara Kusbiyanto Dian Bhagawati	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III Anggota Peneliti IV	Status Taksonomi dan Genetika Populasi Ikan Sidat (Anguilla spp) di Perairan Sungai Kabupaten Cilacap sebagai Acuan Pemanfaatan Berkelanjutan	46,000,000	Biologi
6	Ahadiyat Yugi Rahayu Ahmad Fauzi Okti Herliana Sapto Nugroho Hadi	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Profil Kontaminasi Logam Berat Kadmium (Cd) Dan Timbal (Pb) Di Lahan Budidaya Padi Wilayah Banyumas Serta Upaya Remediasi Guana Mendukung "Go Organic"	46,500,000	Pertanian

7	Arief Sudarmaji Susanto Budi Sulisty Agus Margiwiatno Saparo	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Deteksi Kemurnian dan Adulterasi Minyak Nilam Berbasis Sistem Penciuman Elektronik (E-Nose)	45,000,000	Pertanian
8	Arif Dyaning Intasari Eri Wahyuningsih Budi Aji	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Intervensi "Rubung Cething" dalam Pencegahan Stunting Pada Anak Pekerja Migran di Kabupaten Banyumas	41,250,000	Ilmu Kesehatan
9	Bambang Heru Budianto Rokhmani Edi Basuki	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Faktor Ekologis Yang Menentukan Kelulushidupan Phytoseius Amba Resisten Temperatur dan Augmentasinya Dalam Upaya Pengendalian Tetranychus urticae Koch	37,500,000	Biologi
10	Budi Dharmawan Ratna Satriani Ulfa Nurdiani	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Rancang Bangun Sistem Kelayakan Finansial dan Risiko Pengembangan Varietas Unggul Padi "INPAGO UNSOED 1"	46,900,000	Pertanian
11	Colti Sistarani Erna Kusuma Wati Setiyowati Rahardjo	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Intervensi Continuum Care Era Pandemi Covid 19 : Penerapan Skrining dan Edukasi Online Oleh Kader Jider Jiteng Pada Sasaran Ibu dan Bayi	37,750,000	Ilmu Kesehatan
12	Dwi Nugroho Wibowo Iman Budisantoso Ani Widayastuti	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Pemanfaatan Makrofita Dan Mikrofita Akuatik Sebagai Organisme Pemantau Tingkat Kesuburan Ekosistem Waduk dan Danau Daerah Tropis	42,750,000	Biologi
13	Dwi Sarwani Sri Rejeki Bangun Wijayanto Sri Nurlaela Devi Octaviana	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Pengembangan Model Surveilans Migrasi Malaria Berbasis Kearifan Lokal di Kabupaten Banyumas	40,750,000	Ilmu Kesehatan
14	Eka Prasasti Nur Rachmani Sunarto Ms Puji Lestari Rehana	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Herba Sambito Sebagai Bahan Obat Terstandar Terhadap Penurunan Hiperlipkemia	35,250,000	Ilmu Kesehatan
15	Eko Suyono Oman Rusmana	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Implementasi Sistem Informasi Akuntansi Berbasis Web Pada UKM Produk Olahan Makanan Di Kabupaten Banyumas dan Purbalingga Untuk Meningkatkan Profesionalisme Pengelolaan Usaha	40,750,000	Ekonomi Dan Bisnis

16	Elly Tugiyanti Rosidi Emmy Susanti Ismoyowati	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Suplementasi Nukleotida Dalam Menstimulasi Produktivitas, Imunitas dan Kualitas Daging Ayam Broiler Yang Mendapat Tepung Kunyit dan Jenis Lantai Yang Berbeda	42,750,000	Peternakan
17	Endang Hilmi Tri Nur Cahyo Lilik Kartika Sari	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Rehabilitasi Mangrove Untuk Mengurangi Dampak Penggenangan Pasang Tinggi (Rob And Water Inundation)	20,750,000	Peternakan Dan Ilmu Kelautan
18	Eni Sumarni Priswanto Zaroh Irayani	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Teknologi Smart Greenhouse dan Aplikasi Root Zone Cooling serta Evaporative Cooling Untuk Produksi Benih Kentang Aeroponik di Dataran Rendah	42,750,000	Pertanian
19	Fitranto Arjadi Tuti Sri Subesti Amilia Ramadhani	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Pengaruh Nanosuspensi Purwoceng Terhadap Kadar Malondialdehid Serum dan Perubahan Histopatologi Hipokampus Tikus Wistar Jantan Albino Pasca Sleep Deprivation	42,200,000	Kedokteran
20	Florensius Eko Dwi Haryono R. Taufan Harisam Petrus Hary Tjahja Soedibyo Hendrayana	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Investigasi Biodiversiti Spesies Teripang [Holothuroidea Spp.] Dari Perairan Selatan Jawa Tengah [Acuan Awal Produksi Teripang Ekonomis Penting] [Tahun Ke 1]	40,250,000	Peternakan Dan Ilmu Kelautan
21	Hidayah Dwiyanti V. Prihananto, M.Si Diah Krisnansari, Msi Retno Setyowati	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Pengembangan Kopi Mix Low Glycemic Index Dengan Penambahan Minyak Sawit Merah dan Ekstrak Beras Hitam. Kajian Terhadap Efek Hipoglikemik dan Anti Stress Oksidatif	44,000,000	Pertanian
22	Imam Suswoyo Ismoyowati Elly Tugiyanti	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Upaya Peningkatan Kenyamanan, Produktivitas, Keamanan Produk dan Pendapatan Peternak Itik dengan Menggunakan Probiotik Alami Guna Menghadapi Dampak Perubahan Iklim	40,500,000	Peternakan
23	Imam Widhiono M.Z. Eming Sudiana, M.Si. Darsono	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Penerapan "Flowering Plant Strip" Pada Lahan Pertanian Untuk Mendukung Kehidupan Lebah dan Keberhasilan Penyerbukan	38,500,000	Biologi
24	Intan Shaferi Alisa Tri Nawarini Rio Dhani Laksana	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Pengembangan Model Literasi Keuangan, Pendapatan Bulanan, Perilaku Keuangan terhadap Kesejahteraan Keuangan Petani Kopi Kabupaten Banjarnegara	40,250,000	Ekonomi Dan Bisnis

25	Juni Sumarmo Nur Aini Triana Setyawardani	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Aplikasi Filtrasi Membran Pada Susu Fermentasi	45,250,000	Peternakan
26	Kharisun Joko Maryanto Ratri Noorhidayah Muhammad Rifan	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Perakitan Pupuk Si Alami Granule dengan Pemanfaatan Limbah Organik untuk Peningkatan Produksi dan Ketahanan Tanaman Padi terhadap stress kegaraman pada Lahan Pasir Pantai	44,250,000	Pertanian
27	Lilis Siti Badriah Arintoko Dijan Rahajuni	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Model Pengembangan UMKM Gula Kelapa Melalui Optimalisasi Modal Sosial, Modal Manusia, dan Modal Finansial di Kabupaten Banyumas	41,250,000	Ekonomi Dan Bisnis
28	Mochamad Sugarto Lilis Siti Badriah Yusmi Nur Wakhidati Oentoeng Edy Djatmiko Syarifuddin Nur	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III Anggota Peneliti IV	Analisis Orientasi Kewirausahaan Peternak Sapi Jabres Untuk Mewujudkan Transformasi Kelembagaan Ekonomi Peternak Di Kabupaten Brebes	45,500,000	Peternakan
29	Muhammad Bata Sri Rahayu	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Performa Dan Metabolisme Rumen Domba Lokal Yang Diberi Pakan Jerami Padi Amoniasi Yang Disuplementasi Dfm (Direct-Fed Microbials) Dan Tepung Daun Waru (Hibiscus tiliaceus) (Ternak Model Untuk Sapi)	41,250,000	Peternakan
30	Murni Dwiaji Agus Hery Susanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Induksi Poliploidi pada Angrek Grammatophyllum speciosum Menggunakan kolkisin dan Orizalin	40,750,000	Biologi
31	Najmuddin Suci Indriati Hariyadi	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Collaborative Governance Berbasis Penguatan Kepentingan Lokal Untuk Pengembangan Pariwisata Perdesaan di Kabupaten Banyumas	37,750,000	Ekonomi Dan Bisnis
32	Nur Prihatiningsih Dhadhang Wahyu Kurniawan Heru Adi Djatmiko	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Formulasi Nanoteknologi Biopestisida Bacillus subtilis Isolat Rizosfer Kentang Sebagai Antibakteri dan Antijamur Patogen Padi	45,250,000	Pertanian
33	Novie Andri Setianto Ismoyowati	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Peningkatan Kinerja Produksi Dan Ekonomi Pada Kemitraan Peternakan Ayam Broiler Sistem Open-, Semi Closed-, dan Closed-House Di Kabupaten Kebumen	43,250,000	Peternakan

34	Nuniek Ina Ratnaningtyas Bambang Heru Budianto Nuraeni Ekowati	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Ekstrak Etanol Tubuh Buah <i>Coprinus comatus</i> Sebagai Antinflamasi Pada Tikus Wistar Jantan Rattus Norvegicus Yang Diinduksi Karagenan	42,750,000	Biologi
35	Nuraeni Ekowati Nuniek Ina Ratnaningtyas Hendro Pramono	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Efektivitas Senyawa Bioaktif <i>Lentinula Edodes</i> Terhadap Sel Kanker Kolon (WIDr) dan Sel Kanker Hati (HepG2) Melalui Uji Sitotoksik dan Apoptosis	40,250,000	Biologi
36	Rahab Lusi Suwandari Sudjono	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Bisnis Berwawasan Lingkungan Pada Iklim Batk Banyumas Guna Mendorong Daya Saing Berkelanjutan Industri Kreatif Lokal	45,750,000	Ekonomi Dan Bisnis
37	Ratna Stia Dewi Aris Mumpuni Mardiyah Kurniasi	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Bioreaktor Artifisial Terintegrasi Aplikasi Monitoring Berbasis Mobile : Fungsionalisasi Coating Magnetite-Aspergillus spp. dalam Degradasi Limbah Batik	47,000,000	Biologi
38	Rio Dhani Laksana Sigit Wibowo Dwi Nugroho Refius Pradipta Setyanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Pengembangan Model Implementasi Sistem Pengukuran Kinerja Efektif Saat Pandemi Covid 19 Pada Pelayanan Publik Organisasi Perangkat Daerah (OPD) Pemerintah Kabupaten Banyumas	40,750,000	Ekonomi Dan Bisnis
39	Denok Kurniasih Ahmad Sabiq Abdul Aziz Ahmad	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Kolaborasi Lintas Sektor Untuk Pemberdayaan Wisata Kreatif Di Masa Pandemi Dalam Kerangka Kebijakan Desentralisasi Pembangunan Di Kabupaten Banyumas	41,250,000	Ilmu Sosial Dan Ilmu Politik
40	Sri Lestari Dewi Susilowati Yusriyati Nur Farida	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Pemulihan Kinerja Ukm Pada Masa Pandemi Covid-19 Berbasis Key Performance Indicator Yang Mempengaruhinya	41,750,000	Ekonomi Dan Bisnis
41	Suprayogi Eka Oktaviani Eny Rokhminarsi	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Seleksi Berbasis Marka Dna Untuk Sifat Kepulenan Dan Aromatik, Serta Uji Daya Hasil Galur F7, F8, Dan F9 Dalam Rangka Pelepasan Varietas Baru Padi Hitam Unsoed	44,750,000	Pertanian
42	Suroso Hari Siswanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I	Penerapan Operasi Paralel Inverter Sumber Arus dan Inverter Sumber Tegangan pada Pembangkit Listrik Tenaga Surya	44,000,000	Teknik

43	Totok Agung Dwi Haryanto Sugiyono Agus Riyanto Ponendi Hidayat	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Perakitan Varietas Unggul Padi Penghasil Beras Khusus Adaptif Indonesia	44,750,000	Pertanian
44	Trisnowati Budi Ambarringrum Endang Srimurni Kusmintarsih Hery Pratiknyo Trisno Haryanto	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II Anggota Peneliti III	Status Resistensi Kecoak Jerman, Blattella germanica L. Asal Beberapa Pasar di Kota Purwokerto serta Pengujian Model Trap dalam Upaya Pengendaliannya	43,250,000	Biologi
45	Tyas Retno Wulan Muslihudin Ankarlina Pandu Primadata	Ketua Peneliti Anggota Peneliti I Anggota Peneliti II	Model Integrasi Sustainable Development Goals (SDGs) Pada Perencanaan dan Penganggaran Desa (Studi Terhadap Kepala Desa Perempuan di Kabupaten Banyumas)	48,000,000	Ilmu Sosial Dan Ilmu Politik



Ditetapkan di Purwokerto

REKTOR,
SUWARTO

LAPORAN AKHIR
RISET TERAPAN UNSOED



**FORMULASI NANOTEKNOLOGI BIOPESTISIDA *Bacillus subtilis* ISOLAT
RIZOSFER KENTANG SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR PATOGEN
PADI**

OLEH

Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, MS.

Dhadhang Wahyu Kurniawan, S.Si.Apt., M.Sc.

Dr. Heru Adi Djatmiko, M.P.

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
PURWOKERTO
2021**

HALAMAN PENGESAHAN LAPORAN AKHIR

Riset Terapan Unsoed

Judul	: FORMULASI NANOTEKNOLOGI BIOPESTISIDA <i>Bacillus subtilis</i> ISOLAT RIZOSFER KENTANG SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR PATOGEN PADI
Ketua	
Nama Lengkap dan Gelar	: Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, MS.
Jenis Kelamin	: Perempuan
NIP	: 196105141986012001
Fakultas	: FAKULTAS PERTANIAN
Anggota	
Jumlah Anggota	: 2 orang
Nama Anggota	: 1. Dhadhang Wahyu Kurniawan, S.Si.Apt., M.Sc. 2. Dr.Heru Adi Djatmiko, M.P.
Lokasi Penelitian	: FAKULTAS PERTANIAN
Lama Penelitian	: 10.00 bulan
Biaya yang Diajukan	: 45.250.000

Mengetahui,
Pimpinan Unit



Dr.Ir. Anisur Rosyad MS.
NIP 195810271985111001

Mengetahui,
Ketua LPPM



Prof. Dr. Rifda Naufalin, MS
NIP 197011211995122001

Purwokerto, 26-11-2021

Ketua



Dr. Ir. Nur Prihatiningsih MS.
NIP 196105141986012001

**LAPORAN AKHIR
RISET TERAPAN UNSOED**



**FORMULASI NANOTEKNOLOGI BIOPESTISIDA *Bacillus subtilis* ISOLAT
RIZOSFER KENTANG SEBAGAI ANTIBAKTERI DAN ANTIJAMUR
PATOGEN PADI**

OLEH
Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, MS.
Dhadhang Wahyu Kurniawan, S.Si.Apt., M.Sc.
Dr. Heru Adi Djatmiko, M.P.

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
PURWOKERTO
2021**

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN	iv
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	5
III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	9
IV. METODE PENELITIAN	10
V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	14
VI KESIMPULAN DAN SARAN	19
A. Kesimpulan	19
B. Saran	19
DAFTAR PUSTAKA	20
LAMPIRAN	24

RINGKASAN

Penyakit utama padi yang dapat menurunkan hasil mencapai lebih dari 60% adalah hawar daun bakteri oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*), dan hawar pelepah oleh *Rhizoctonia solani*. *Bacillus subtilis* isolat rizosfer kentang telah diformulasi cair dan mikroenkapsulan sebagai pengendali penyakit antraknosa dan layu bakteri pada solanaceae, belum pada padi. Tujuan penelitian ini adalah 1). Seleksi *B.subtilis* isolat kentang untuk membuat formula nanopartikel biopestisida berbasis *B.subtilis*, 2) menguji efektivitas nanopartikel *B. subtilis* sebagai antibakteri dan antijamur patogen padi, 3) mengaplikasikan pada tanaman padi untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah, 4) mengevaluasi aplikasi biopestisida formula nanopartikel. Penelitian dilakukan secara eksperimental selama 2 tahun. Tahun pertama pembuatan formula biopestisida dengan teknologi nanopartikel dan menguji efektivitasnya terhadap bakteri dan jamur patogen padi. Efektivitas nanopartikel *B. subtilis* sebagai antibakteri dan antijamur patogen padi dilakukan secara *in vitro* dengan rancangan acak lengkap. Variabel yang diamati adalah terbentuknya zona terang. Tahun ke dua menguji aplikasi biopestisida formula nanopartikel pada padi untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah, serta mengevaluasi aplikasi biopestisida formula nanopartikel terhadap pertumbuhan, hasil dan ketahanan tanaman padi. Hasil penelitian tahun pertama diawali dari seleksi lima isolat *B. subtilis* rizosfer kentang yang mampu menghambat kedua patogen padi (bakteri *Xoo* dan jamur *R. solani*) untuk dibuat formula nanopartikel. Variabel yang diamati zona hambatan dan mekanisme penghambatan. Berdasarkan hasil pengujian lima isolat *B. subtilis* yang mampu mengendalikan pertumbuhan *Xoo* dan *R. solani* adalah B211, B298 dan B315. Isolat *B. subtilis* B315 menunjukkan zona terluas dalam menekan pertumbuhan *Xoo* dengan zona hambat sebesar 10 mm, dan mekanisme bakteriostatik. Isolat *B. subtilis* B315 mampu menekan pertumbuhan *R. solani* sebesar 83,3% dan mekanisme terjadi malformasi morfologi hifa *R. solani*.

Kata kunci: antimikroba, *Bacillus subtilis*, formula, nanopartikel, padi

I. PENDAHULUAN

Bacillus subtilis merupakan bakteri bukan patogen tanaman, berperan dalam pengendalian penyakit tanaman, peningkatan pertumbuhan dan hasil tanaman. Menurut Choudhary dan Johri (2009) *Bacillus* sp. juga berperan sebagai penginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen. *Bacillus* sp. sebagai agens pengendali hayati patogen tanaman mempunyai prospek pengembangan yang baik karena tahan kondisi ekstrem, mudah diperbanyak, tumbuh cepat pada medium cair dan mempunyai endospora spora yang menyebabkan tahan terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem (Kim et al, 2003; Compant et al, 2005; Zivkovic et al, 2010). *Bacillus* sp. menunjukkan kemampuan menghasilkan siderofor, pelarut fosfat dan beberapa enzim hidrolitik seperti katalase, amilase dan kitinase (Prihatiningsih dan Djatmiko, 2016; Lestari et al, 2017; Prihatiningsih et al., 2017).

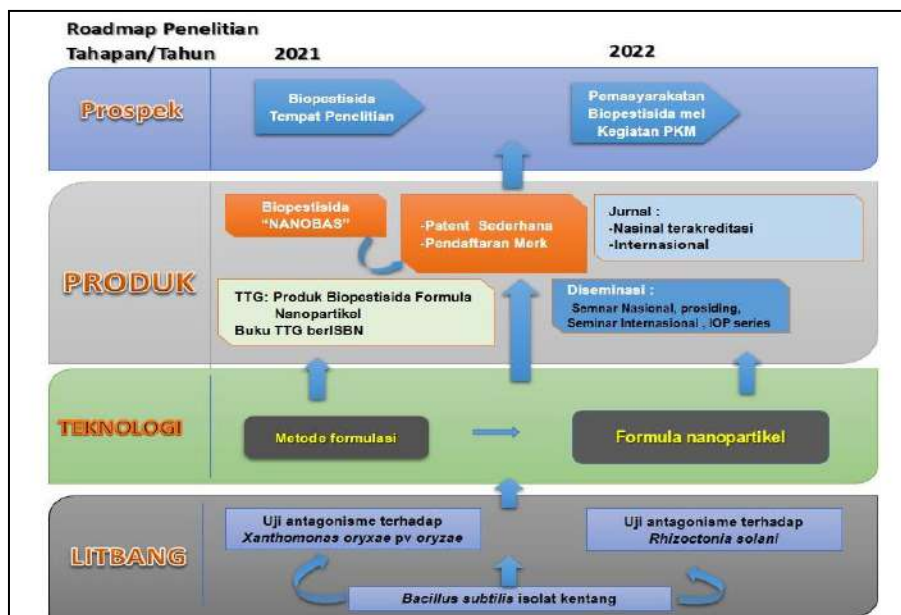
Formulasi yang sudah diteliti dan keefektifan terhadap patogen tanaman adalah formula padat mikroenkapsulan sebagai pengendali penyakit antraknosa cabai oleh *Colletotrichum gloeosporioides* (Prihatiningsih et al., 2019) dan formula cair dari bakteri endofit *Bacillus* sp. terhadap penekanan penyakit hawar daun bakteri padi (Prihatiningsih et al., 2020a). Pada era nanopartikel, menginspirasi di bidang pertanian, formulasi pestisida atau biopestisida telah bergeser ke nanopartikel. Penggunaan nanoteknologi dalam pengelolaan pertanian yang berkelanjutan terbukti sangat menjanjikan (Singh et al., 2020).

Oleh karena itu, permasalahan yang diangkat dalam penelitian ini adalah bagaimana penyusunan formula nanopartikel biopestisida berbasis *B. subtilis* isolat rizosfer kentang sebagai antibakteri dan antijamur patogen pada tanaman padi, sehingga diharapkan dengan formula nanopartikel yang ramah lingkungan ini dapat mengendalikan penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan hawar pelepah padi oleh *Rhizoctonia solani*. Kedua penyakit ini merupakan pembatas produksi padi (Sudir, 2012; Nuryanto, 2017). *B. subtilis* yang digunakan dalam penelitian ini adalah yang diisolasi dari rizosfer kentang, dan

telah diuji pada tanaman famili solanaceae, mampu menekan penyakit layu bakteri, dan meningkatkan pertumbuhan tanaman, namun belum pada tanaman padi. Oleh karena itu untuk meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas padi dilakukan penelitian ini dengan pemanfaatan *B. subtilis* isolat rizosfer kentang sebagai bahan penyusun biopestisida nanopartikel.

Temuan yang ditargetkan dari penelitian ini adalah mendapatkan formula nanopartikel biopestisida *B. subtilis* yang mampu sebagai antibakteri dan antijamur patogen padi, sehingga dapat mengendalikan perkembangan penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah padi. Berdasarkan temuan ini diharapkan dapat menghasilkan luaran berupa produk biopestisida *B. subtilis* dengan formula nanopartikel yang dipatenkan melalui Paten sederhana. Selain itu hasil pengujian terhadap tanaman padi di lahan untuk menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah dapat ditulis menjadi artikel yang disubmit pada jurnal nasional terakreditasi maupun jurnal internasional. Penyusunan buku TTG juga menjadi target dari luaran penelitian ini pada tahun ke dua.

Roadmap penelitian selama 2 tahun ditunjukkan pada Gambar 1, dimulai dengan penelitian dan pengembangan, menghasilkan teknologi berupa biopestisida formula nanoteknologi dan luaran atau produk berupa biopestisida dengan nama “NANOBAS”, yang didaftarkan paten sederhana, sampai dengan prospeknya adalah pemasyaraktan biopestisida ini.



Gambar 1. Roadmap penelitian selama 2 tahun

Kontribusi hasil penelitian ini adalah untuk pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang dapat dimanfaatkan oleh mitra. Mitra penelitian adalah Balai Penyuluhan Pertanian yang merupakan instansi yang memiliki beberapa tenaga penyuluh, sehingga dapat memanfaatkan teknologi hasil penelitian ini dan dapat terlibat dalam penelitian. Urgensi keterlibatan mitra adalah sesuai dengan kompetensi kinerjanya untuk dapat menularkan teknologi inovasi yang menguntungkan, ramah lingkungan dan dapat mengurangi penggunaan pestisida kimia sintetis.

Tabel 1. Rencana Target Capaian Tahunan RUU

No	Jenis Luaran		Indikator Capaian	
			TS	TS+1
1.	Publikasi Ilmiah	Internasional	draf	reviewed
		Nasional terakreditasi	reviewed	accepted
2.	Pemakalah dalam temu ilmiah	Internasional	Tidak ada	dilaksanakan
		Nasional	dilaksanakan	dilaksanakan
3.	<i>Invited speaker</i> dalam temu ilmiah	Internasional	Tidak ada	Tidak ada
		Nasional	Tidak ada	Tidak ada
4.	<i>Visiting lecturer</i>	Internasional	Tidak ada	Tidak ada
5.	Hak Kekayaan Intelektual	Paten Sederhana	terdaftar	granted
6.	Buku Teknologi Tepat Guna		Proses editing	terbit
7.	Prototipe: Produk Biopestisida “Nanobas”		Produk	Penerapan
8.	Tingkat Kesiapan Teknologi (TKT)		4	5

Nanopartikel adalah teknologi nano atau nanopartikel merupakan teknik formulasi pestisida dengan teknologi nanopartikel disebut juga sebagai nanobiopestisida (Lade et al., 2019) telah dikembangkan sejak abad 19, namun baru diperhatikan kembali sejak 1959. Teknologi nano dalam bidang pengelolaan penyakit tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk diagnosis penyakit dan deteksi patogen, evaluasi penekanan terhadap patogen, dan mereformulasi pestisida. Aplikasi dan efektivitas pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan nanobiopestisida adalah aplikasi pada tanah, benih atau daun untuk melindungi tanaman dari invasi patogen

(Alghuthaymi et al., 2015). Nanoteknologi mempunyai kelebihan sebagai pestisida karena dapat mengurangi toksisitas, memperbaiki shelf-life dan kelarutan pestisida yang kurang bisa larut dalam air, dan berpengaruh positif terhadap lingkungan (Worral et al., 2018).

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Bacillus* sp. sebagai Antagonis Patogen Tanaman

Bacillus sp. dikenal sebagai bakteri antagonis terhadap beberapa patogen tanaman baik jamur maupun bakteri. Mekanisme penghambatan terhadap patogen dapat secara antibiosis, dan kompetisi baik ruang maupun nutrisi. *B. subtilis* isolat rizosfer kentang B46, B209, B211, B298 dan B315 mampu menghasilkan siderofor tipe catecholat dan hydroxamat. Siderofor berfungsi sebagai pengkhelat besi (Fe^{3+}), sehingga besi menjadi tidak tersedia bagi patogen, namun ikatan siderofor-besi menjadi tersedia bagi tanaman. Selain penghasil siderofor *Bacillus* sp. juga sebagai penghasil IAA (*indole acetic acid*) yang berfungsi sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, demikian juga bakteri endofit *Bacillus* sp. (Prihatiningsih et al., 2017; 2020a). Perlakuan *Bacillus* sp. sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan pengendali penyakit adalah dalam bentuk cair dan formulasi mikroenkapsulan. *B. subtilis* dalam formula cair dan mikroenkapsulan mampu bertahan sampai dengan 5 minggu masih menunjukkan eksistensi dengan efektifitas yang cukup untuk meningkatkan pertumbuhan dan penekanan penyakit (Prihatiningsih et al., 2020b). Oleh karena itu perlu dibuat formula nanopartikel yang dapat meningkatkan *shelf-life* *Bacillus* sp., lebih stabil, lebih mudah larut dan tahan kondisi lingkungan.

Nanoteknologi merupakan konsep yang dikembangkan di bidang pertanian untuk meningkatkan hormon tumbuhan, perkecambahan benih, pengelolaan air, transfer gen target, dan mengontrol pelepasan agrokemikal. Menurut Worrall et al., (2018) pemanfaatan nanopartikel untuk melindungi tanaman dengan dua mekanisme yaitu nanopartikel sebagai pelindung tanaman dan sebagai karier untuk keberadaan pestisida yang dapat diaplikasikan dengan cara disemprot, *drenching* atau *soaking* (perendaman benih) pada jaringan daun atau akar. Nanopartikel sebagai karier mempunyai beberapa keuntungan seperti meningkatkan *shelf-life*, meningkatkan kelarutan dari pestisida yang kurang dapat larut, mengurangi toksisitas dan spesifik

terhadap organisme pengganggu tanaman, stabil dalam tekanan kondisi lingkungan (UV dan hujan), mengurangi jumlah toksisitas dan biaya pengendalian.

B. Kitosan sebagai Bahan Pembawa Formula Nanopartikel *B.subtilis*-kitosan

Berkenaan dengan tingginya risiko lingkungan akibat aplikasi pestisida, maka pemanfaatan agens hayati seperti biopestisida sebagai pengendali penyakit tanaman sangat direkomendasikan. Kitosan dan oligokitosan merupakan derivat kitin sebagai agens pengendali hayati yang baik, tidak bersifat toksik, *biodegradable* dan *biocompatible*. Kitosan melimpah keberadaannya merupakan polimer alami dengan dua pengaruh yaitu mengendalikan patogen dengan mencegah pertumbuhannya, sporulasinya, viabilitas spora, perkecambahan, memecah sel serta menginduksi ketahanan tanaman dan menghambat interaksi patogen-inang. Untuk mencapai pertanian berkelanjutan maka kitosan menjadi populer untuk dimanfaatkan sebagai pelindung tanaman. Pada bidang pertanian kitosan digunakan pula sebagai elisitor (penginduksi ketahanan tanaman), biofungisida dan memodifikasi interaksi mikroba-tanaman (Hassan dan Chang, 2017).

Kitosan merupakan senyawa derivat dari kitin yang memiliki linear polisakarida yang tersusun dari β -(1–4)-linked d-glucosamine dan *N*-acetyl-d-glucosamine. Senyawa ini banyak terkandung dalam kulit udang. Dalam bentuk nanopartikel, kitosan memiliki aktivitas antibakteri dan adsorpsi yang lebih baik jika dibandingkan dalam bentuk biasa (Yudhasasmita dan Nugroho, 2017). Fungsi kitosan mampu menunjukkan aktivitas antimikroba maka perlu dibuat biopestisida nanopartikel dengan kombinasi *B. subtilis*-kitosan. Kitosan mampu sebagai antijamur, yaitu mempengaruhi pertumbuhan miselium, sporulasi, morfologi dan molekular jamur. Kitosan efektif menghambat pertumbuhan radial miselium, sporulasi, perkecambahan spora *Fusarium* spp., *Rhizopus* spp., *Phytophthora* spp., *Botrytis* spp. dan *Alternaria* spp. (Hassan dan Chang, 2017). Meng et al. (2010) mendemonstrasikan penghambatan laju pertumbuhan miselium jamur yang tergantung pada konsentrasi kitosan dan derivatnya. Penghambatan pertumbuhan jamur meningkat dengan meningkatnya konsentrasi kitosan. Efek penghambatan

kitosan juga tergantung pada pelarut yang digunakan, terbaik adalah asam laktat dibanding dengan asam asetat. Sama halnya dengan jamur, bakteripun sensitif terhadap kitosan. Liu et al (2012) menyatakan bahwa kitosan dapat menekan penyakit busuk pelepah, damping-off, dan busuk akar oleh *Rhizoctonia* spp. Kitosan dapat melindungi tanaman terhadap penyakit karena bakteri. Efek antibakteri kitosan ditunjukkan terhadap bakteri patogen tanaman seperti *Streptomyces scabies*, *Xanthomonas*, *Pseudomonas syringae*, *Agrobacterium tumefaciens*, *Erwinia* (Beausejour et al, 2003; Li et al. 2008; Ferrante dan Scortichini, 2010; Rabea dan Steurbaut, 2010). Mekanisme kitosan terhadap bakteri patogen adalah bersifat bakterisidal dan bakteriostatik. Aplikasi penyiraman dengan kitosan secara nyata dapat mengurangi insidensi layu oleh *Ralstonia solanacearum* sebesar 72% ketika tomat ditumbuhkan di greenhouse, dan mampu memperbaiki pertumbuhan tanaman tomat (Hassan dan Chang, 2017).

Fungsi kitosan dalam pembuatan biopestisida nanopartikel *B. subtilis*-kitosan adalah sebagai meningkatkan aktivitas bakteri *B. subtilis*, karena mampu meningkatkan biokompatibilitas dan afinitas pengikatan dengan muatan negatif. Kitosan akan mudah larut apabila kondisi asam misalnya dengan dengan asam asetat, asam laktat. Salah satu bentuk pengembangan kitosan dengan melakukan memodifikasi ikatan silang antara kitosan dengan ion-ion yang sifatnya larut dalam air seperti fosfat, sulfat, sianat dll. Melalui metode ikatan silang baik secara intramolekul maupun intermolekul, ukuran partikel dapat dikontrol hingga super halus mencapai skala nano (Husniati dan Oktarina, 2014). Qi et al (2004) melaporkan bahwa ukuran partikel kitosan pada skala nano mempunyai aktivitas antibakteri terhadap berbagai macam mikroorganisme. Berdasarkan hal tersebut, maka supernatan *B. subtilis*-kitosan diformulasi nanopartikel agar mampu meningkatkan aktivitas *B. subtilis* sebagai bakteri antagonis terhadap patogen tanaman. Cu-kitosan nanopartikel dapat menginduksi ketahanan tanaman terhadap penyakit misalnya pada tanaman jagung lebih tahan terhadap penyakit bercak daun curvularia disebabkan oleh *Curvularia lunata*, meningkatkan pertumbuhan tanaman pada kondisi lapang secara berkelanjutan. Cu-kitosan berpotensi menginduksi

ketahanan sistemik (SAR=systemic acquired resistance) untuk efektifitas pengendalian penyakit bercak daun curvularia (Choudhary et al. 2017).

C. Nanopartikel *Bacillus subtilis*-kitosan untuk mengendalikan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan *Rhizoctonia solani*

Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* merupakan bakteri penyebab penyakit hawar daun padi atau disebut juga kresek, dengan kerugian yang ditimbulkan bervariasi 2-74%, tergantung pada lokasi, musim, stadium pertumbuhan tanaman, dan kultivar (Rajarajeswari dan Muralidharan, 2006; Wahyudi et al., 2011, Kala et al., 2015), Sudir et al (2012) menyatakan kehilangan hasil padi karena hawar daun bakteri mencapai 80%. Patogen ini menyebabkan tipe gejala vaskular pada pembibitan atau fase vegetatif, sehingga disebut kresek dan berkembang sebagai hawar pada akhir fase pertumbuhan tanaman atau fase generatif. Bakteri golongan *Xanthomonas* dikenal sebagai patogen beberapa tanaman seperti kubis, bawang merah, dan kedelai dan tanaman obat (Rajarajeswari dan Muralidharan, 2006; Sudir et al. 2012). Mekanisme *B. subtilis* secara koloni mengendalikan *X.oryzae* pv *oryzae* adalah bakteriostatik, diharapkan dengan formula nanopartikel mampu meningkatkan efektivitas pengendalian.

Rhizoctonia solani penyebab penyakit hawar pelepah padi merupakan jamur yang mengganggu produksi padi. Selama 2 dekade ini penyakit hawar pelepah menjadi perhatian karena dengan intensifikasi sistem pertanaman padi melalui pengembangan pengolahan tanah tinggi, varietas yang berproduksi tinggi dan kepadatan populasi tanaman tinggi dengan penambahan pupuk nitrogen, menyebabkan penyakit hawar pelepah lebih berkembang cepat (Banniza et al., 1999). Faktor yang memacu penyebaran penyakit adalah iklim mikro yang menguntungkan, karena kepadatan kanopi daun, meningkatnya kontak daun ke daun juga daun ke pelepah (Savary et al., 1995). Teknologi pengendalian hawar pelepah dengan menerapkan beberapa komponen epidemiologi secara terpadu mempunyai peluang keberhasilan tinggi dalam menekan perkembangan penyakit (Nuryanto, 2017). Formula nanopartikel *B. subtilis*-kitosan diharapkan dapat meningkatkan efektivitas

pengendalian karena secara tunggal *B. subtilis* maupun kitosan mempunyai aktivitas antijamut.

III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

Tujuan penelitian tahun pertama ini adalah 1). menyeleksi *B. subtilis* isolat rizosfer kentang sebagai pengendali *X. oryzae* pv. *oryzae* dan *R. solani*, 2) membuat formula nanopartikel biopestisida berbasis *B. subtilis* hasil seleksi, 3) menguji efektivitas nanopartikel *B. subtilis* sebagai antibakteri dan antijamur patogen padi *in vitro*, 4) mengevaluasi shelf-life *B. subtilis* dalam formula nanopartikel.

Manfaat penelitian adalah mendapatkan formula nano partikel *B. subtilis*-kitosan yang mampu sebagai pengendali *X. oryzae* pv. *oryzae* dan *R. solani*, sehingga mampu memberi kontribusi dalam pengendalian penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah padi yang ramah lingkungan.

III. METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan secara bertahap dalam 2 (dua) tahun (2021-2022). Tahun pertama dilaksanakan di laboratorium Farmasi Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Laboratorium Riset UNSOED dan Laboratorium Perlindungan Tanaman Fakultas Pertanian UNSOED. Penelitian tahun ke dua dilaksanakan di tempat mitra Desa Linggasari Kecamatan Kembaran Kabupaten Banyumas. Bahan yang digunakan adalah bakteri antagonis *B. subtilis* B298 dan B315, kitosan, dapar asetat, TPP (*Tripoliphosphate*), medium YPGA (*yeast extract pepton glucosa agar*), YP (*yeast extract pepton cair*), NA (*nutrient agar*) dan PDA (*potato dextrose agar*). Alat yang digunakan adalah Cawan Petri, tabung reaksi, mikropipet, erlenmeyer, vacoal, kertas saring, jarum Ose, skalpel, aluminium foil, mikropipet, PSA (*particle size analyzer*). Spektrofotometer, TEM (*Transmission Electron Microscope*), alat tulis, kamera. Tahapan Penelitian dalam 2 tahun ditunjukkan dalam Gambar 2



Gambar 2. Tahapan penelitian selama dua tahun

Penelitian tahun 1

1. Penyiapan bakteri *B. subtilis* isolat rizosfer kentang

B. subtilis B46, B209, B211, B298 dan B315 disiapkan dari biakan murni dengan cara direfresh ditumbuhkan kembali pada medium YPGA (yeast pepton glukosa agar), dilakukan screening penghambatan terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* dan *R. solani in vitro* untuk memilih isolat yang terbaik menekan kedua patogen dengan menggunakan koloni *B. subtilis* sebelum dibuat formula nanopartikel. Metode yang digunakan dalam screening ini adalah *dual culture* (Ghosh, 2009; Maurya et al., 2014). Perhitungan penghambatan bakteri antagonis terhadap bakteri patogen dengan mengukur zona hambatan= diameter zona-diameter koloni bakteri antagonis (mm). Penghambatan terhadap jamur patogen dihitung dengan rumus yang digunakan Maurya et al. (2014) sebagai berikut.

Penghambatan (%), adalah $(I) = C-T/C \times 100$ dimana C: pertumbuhan miselium patogen pada kontrol, atau yang tumbuh berlawanan arah terhadap antagonis, T: pertumbuhan miselium patogen pada plate *dual culture* atau yang tumbuh mengarah antagonis.

2. Pembuatan formula biopestisida nanopartikel

a. Optimasi formulasi supernatant *Bacillus subtilis* dengan kitosan nanopartikel

Pada penelitian ini supernatant *B. subtilis* akan dibuat menjadi nanopartikel dengan polimer kitosan menggunakan metode gelasi ionic (Sulistyo et al., 2017). Untuk mendapatkan nanopartikel yang optimum maka dibuat seri konsentrasi dari supernatant *B. subtilis* dan kitosan. Supernatant *B. subtilis* dengan kepadatan populasi 10^9 cfu/mL sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung Eppendorf kemudian

ditambahkan 0,5 mL larutan kitosan dalam larutan asetat pH 5,0. Setelah penambahan larutan kitosan, campuran dihomogenkan dengan vortex selama 20 detik. Ke dalam campuran homogen tersebut ditambahkan 5 μ L larutan TPP 0,03% dan segera dihomogenkan kembali dengan vortex selama 20 detik. Dispersi nanopartikel diamati jumlah supernatant *B. subtilis* yang tidak larut untuk menentukan campuran optimum yang akan digunakan untuk pengerjaan selanjutnya. Rencana komponen optimasi formulasi ko-polimer supernatant *B. subtilis* dengan kitosan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Optimasi formulasi ko-polimer supernatant *B. subtilis* dengan kitosan

Supernatant <i>B. subtilis</i> Kitosan	0,01 %	0,02 %	0,03 %	0,04 %
0,02 %				
0,04 %				
0,06 %				
0,08 %				
0,10 %				

b. Penentuan ukuran dan distribusi nanopartikel

Ukuran nanopartikel supernatan *B. subtilis*–kitosan nanopartikel diketahui dengan menentukan ukuran dan distribusi ukuran nanopartikel menggunakan alat *particle size analyzer* (PSA). Sebanyak 2 tetes sampel nanopartikel 0,02% pH 5,0 dan 0,04% pH 5,0 masing-masing ditambahkan 5 mL akuades dicampur hingga homogen. Setelah itu diambil 3 mL dan dimasukkan ke dalam kuvet untuk dianalisis.

c. Pengamatan morfologi nanopartikel

Morfologi nanopartikel supernatan *B. subtilis*–kitosan digunakan mikroskop elektron transmisi (TEM). Sampel nanopartikel ditetesi di atas *copper grid* kemudian dilapisi karbon dengan alat *Auto Carbon Coated* (JOEL JEC-560, Japan) selama 5 detik, setelah itu dikeringkan pada suhu ruang selama 24 jam. Setelah sampel nanopartikel kering dilapisi lagi dengan carbon seperti tersebut di atas lalu *copper grid* dimasukkan ke dalam *holder* dan sampel siap dianalisis dengan percepatan *voltage* 120 kV dan magnifikasi 60000.

d. Uji stabilitas nanopartikel

Nanopartikel supernatan *B. subtilis*-kitosan diamati terjadi/tidaknya sedimentasi pada interval waktu hingga 1 bulan melalui pemeriksaan ukurannya menggunakan PSA (Kurniawan et al., 2018).

3. Uji aktivitas nanopartikel *B. subtilis*-kitosan terhadap bakteri Xoo dan jamur *R solani*

Uji aktivitas formula biopestisida nanopartikel *B. subtilis*-kitosan terhadap bakteri patogen Xoo dilakukan dengan metode difusi cakram. Koloni bakteri patogen Xoo ditumbuhkan secara *pour plate* ke dalam medium NA (*Nutrient agar*), kemudian diletakkan kertas cakram 6 mm selanjutnya dipipet 20 µL formula biopestisida nanopartikel *B. subtilis*-kitosan yang dilarutkan, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona terang yang tumbuh di sekitar kertas cakram menunjukkan aktivitas antibakteri dari formula tersebut diukur dengan menggunakan jangka sorong (Husniati dan Oktarina, 2014).

Uji aktivitas formula biopestisida nanopartikel *B. subtilis*-kitosan terhadap pertumbuhan *R. solani* mengikuti metode Kaur et al (2013). Medium PDA (*potato dextrose agar*) diplating pada cawan Petri dengan menambahkan 1 mL dari larutan stok konsentrasi formulasi nanopartikel 100µg/ml dengan cara *pour plate* kemudian diinkubasi 48 jam. Setelah 48 jam kemudian di tengah petri diberi potongan miselium jamur *R. solani* diinkubasi pada suhu kamar sampai 7-10 hari atau sampai kontrol pada medium PDA yang tanpa formula nanopartikel. Persentase penghambatan dihitung dengan mengukur diameter koloni miselium pada kontrol dan diameter koloni pada perlakuan, dengan rumus % penghambatan (I) = $(dc-dt)/dc \times 100\%$, dc: diameter koloni miselium kontrol, dt: diameter koloni miselium perlakuan (Kaur et al., 2013).

V. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian tahun pertama meliputi seleksi 5 isolat *B. subtilis* (B46, B209, B211, B298 dan B315) untuk dapat menentukan isolat yang akan dibuat formula nanopartikel pada proses tahapan penelitian selanjutnya. Seleksi *B. subtilis* terhadap bakteri patogen *X. oryzae* pv. *oryzae* dan jamur patogen *R. solani* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Penghambatan 5 isolat *B. subtilis* terhadap *Xoo* dan *R. solani*

Kode Isolat <i>B. subtilis</i>	Zona hambat (mm) >< <i>Xoo</i>	Mekanisme penghambatan	Penghambatan (%)>< <i>R. solani</i>	Mekanisme penghambatan
B46	-	-	-	-
B209	-	-	-	**
B211	8	bakteriostatik	75	*
B298	8	bakteriostatik	66,7	*
B315	10	bakteriostatik	83,3	*

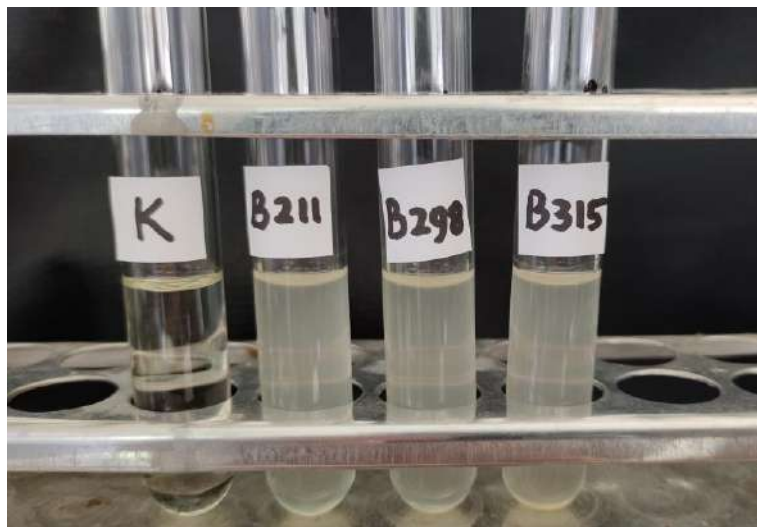
Keterangan: *: Miselium yang tumbuh berlawanan arah dengan koloni antagonis tumbuh normal (R1) sedangkan yang tumbuh ke arah antagonis miseliumnya membengkok berkerut, dan ujungnya bulat.

**: Miselium tidak tumbuh di sekeliling koloni tapi terbentuk pigmen merah



Gambar 1. Penghambatan *B.subtilis* terhadap *Xoo*

Mekanisme penghambatan terhadap *B. subtilis* terhadap *Xoo* adalah antibiosis secara bakteriostatik artinya hanya mampu menghambat pertumbuhan *Xoo* namun tidak mematikan. Hal ini ditunjukkan dengan air peptonnya keruh yang menunjukkan masih ada pertumbuhan *Xoo*, sedangkan mekanisme bakterisidal terjadi apabila air peptonnya tetap jernih seperti kontrol (Gambar 2). Mekanisme bakteriostatik kelima isolat *B. subtilis* ini juga ditunjukkan terhadap bakteri patogen *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri kentang (Prihatiningsih, 2013).

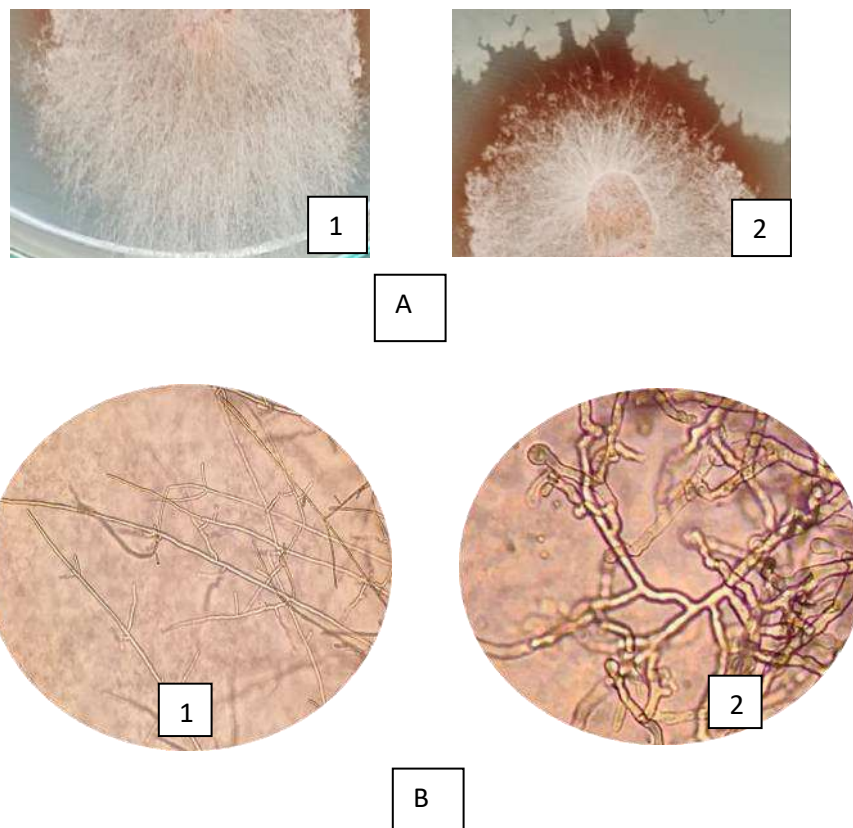


Gambar 2. Mekanisme bakteriostatik isolat *B. subtilis* terhadap *Xoo*



Gambar 3. Penghambatan *B. subtilis* terhadap *R. solani*

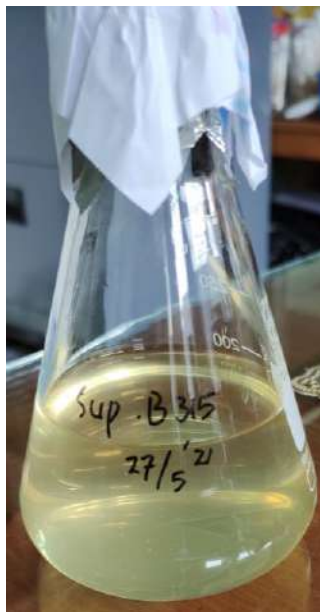
Mekanisme penghambatan terhadap *R. solani* ditunjukkan pada Gambar 4



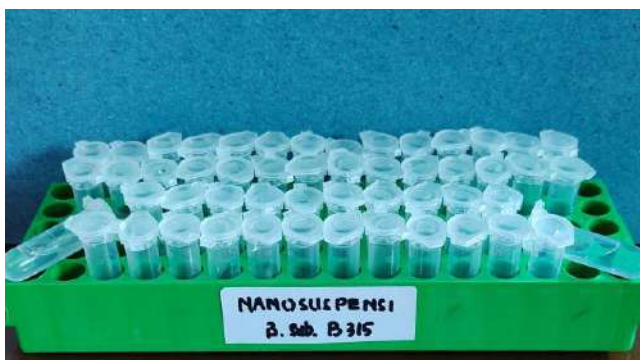
Gambar 4. Mekanisme penghambatan *B. subtilis* terhadap *R. solani* secara makroskopik (A) dan mikroskopik (B)

Pembuatan Nanopartikel

Formula nanopartikel *B. subtilis*-kitosan telah disiapkan *B. subtilis* terpilih yaitu B315 ditumbuhkan pada medium YPGA miring, kemudian diambil 1 Ose untuk ditumbuhkan pada medium pepton cair dan digojog 150 rpm 2 hari, kemudian disentrifuse pada suhu kamar dengan kecepatan 3000 rpm 15 menit. Supernatan siap untuk pembuatan nanopartikel.



Gambar 5. Supernatan *B. subtilis* B315 untuk pembuatan nanopartikel



Gambar 6. Nanosuspensi *B. subtilis* B315



Gambar 7. Uji penghambatan Nanosuspensi *B. subtilis* B315 terhadap *Xoo* in vitro

Berdasarkan uji penghambatan *B. subtilis* B315 terhadap *Xoo* in vitro, menunjukkan bahwa kedua metode penghambatan dengan koloni dan suspensi *B. subtilis* B315 mampu menghambat pertumbuhan *Xoo* in vitro (Gambar 1 dan 7). Namun penghambatan *Xoo* dengan formula nanosuspensi penghambatannya lebih kecil dibandingkan dengan formula cair *B. subtilis* B315 (suspensi), akan tetapi zona penghambatannya lebih terang atau jernih. Perlakuan suspensi adalah ekstrak kasar (*crude extract*) dari *B. subtilis* B315 yang meliputi suspensi ekstraselular dan sel bakteri, sedangkan perlakuan nanosuspensi adalah senyawa ekstraselular (tanpa sel bakteri). Dengan demikian dapat dikatakan bahwa yang berperan menghambat *Xoo* in vitro adalah tidak hanya ekstraselulernya namun juga sel bakterinya, atau karena pengaruh kitosan. Hasil penelitian Monteiro et al (2005) menyebutkan bahwa bakteri

Bacillus sp. mampu sebagai antagonis *Xanthomonas campestris* pv. *campestris* dengan senyawa lipopeptida yang dihasilkan sebagai metabolit sekundernya..

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil pengamatan dapat disimpulkan bahwa

1. Isolat *B. subtilis* dari rizosfer kentang yang terpilih untuk membuat formula nanopartikel adalah *B. subtilis* B315.
2. Isolat *B. subtilis* B315 menunjukkan zona terluas dalam menekan pertumbuhan *Xoo* dengan zona hambat sebesar 10 mm, dengan mekanisme bakteriostatik
3. Isolat *B. subtilis* B315 menunjukkan penghambatan terbesar terhadap *R. solani* dengan persentase penghambatan sebesar 83,3%

B. Saran

Berdasarkan hasil dan pembahasan disarankan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh formula nanopartikel terhadap penekanan patogen padi, dan perlu diteliti tentang *shelflife* (daya tahan hidup) bakteri *B. subtilis* B315 di dalam formula nanopartikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Alghuthaymi, M.A., Almoammar H., Rai M., Said-Galiev E., & Abd-Elsalam KA. 2015. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*, 29(2): 221-236
- Banniza, S., A. A. Sy, P. D. Bridge, A.A.Sy.P.D., Simons, S.A., and Holderness, M. 1999. Characterization of Populations of *Rhizoctonia solani* in Paddy Rice Fields in Côte d'Ivoire. *Phytopathology* 89:414-420
- Beausejour, J., Clemont, N., and Beaulieu, C. 2003. Effect of *Streptomyces melanosporofaciens* strain Ef-76 and of chitosan on common scab of potato. *Plant Soil*. 256: 463-468
- Choudhary, D.K., and Johri, B.N. 2009. Interactions of *Bacillus* spp. and plants – with special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research* 164 (2009) 493—513
- Choudhary, R.C., Kumaraswarny, R.V., Kumari, S., Sharma, S.S., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P., & Saharan, V. 2017. Cu-chitosan nanoparticle boost defense responses and plant growth in maize (*Zea mays* L.) *Scientific Reports* 7:9754
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C., Barka, E.A. 2005: Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiol.*, 71 (9): 4951- 4959.
- Ferrante, P. and Scortichini, M. 2010. Molecular and phenotypic features of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* isolated during recent epidemics of bacterial canker on yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis*) in central Italy. *Plant Pathol.* 59: 954-962
- Ghosh PP, Mandal D, Laha S, & Dasgupta MK. 2009. Dynamics and severity model in managing fungal diseases. *J. Plant Prot. Sci.* 1(1): 55–59
- Hassan, O., and Chang T. 2017. Chitosan for Eco-friendly Control of Plant Disease. *Asian Journal of Plant Pathology* 11:53-70
- Husniati dan Oktarina, E. 2014. Sintesis nano partikel kitosan dan pengaruhnya terhadap inhibisi bakteri pembusuk jus nenas. *Jurnal Dinamika Penelitian Industri* 25(2):89-95

- Kala A., Soosairaj S., Mathiyazhagan S. and Raja P. 2015. Isolation and Identification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* the causal agent of rice bacterial leaf blight and its activities against of six medicinal plants. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 5(6): 80-83
- Kaur T., Sharma D, Kaur A, Manhas, R.K. 2013. Antagonistic and plant growth promoting activities of endophytic and soil actinomycetes. *Arch. Phytopathology. Plant Prot.* 46(14): 1756-1768
- Kim H-S., Park, J., Choi, S-W., Choi, K-H., Lee, G.L., Ban, S.J., Lee, C.H., Kim, C.S. 2003: Isolation and characterization of *Bacillus* strains for biological control, *J. Microbiol.*, 41(3): 196.
- Kurniawan, D. W., Jajoriya, A. K., Dhawan, G., Mishra, D., Argemi, J., Bataller, R., Storm, G., Mishra, D. P., Prakash, J., & Bansal, R. 2018. Therapeutic inhibition of spleen tyrosine kinase in inflammatory macrophages using PLGA nanoparticles for the treatment of non-alcoholic steatohepatitis. *Journal of Controlled Release*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.09.004>
- Lade, B.D., Gogle, D.P., Lade, D.B., Moon, G.M., Nandeshwar, S.B., Kumbhare S.D. 2019. Nanobiopesticide formulations: Application strategies today and future perspectives. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415829-6-00007-3>
- Lestari P, N. Prihatiningsih, & H.A. Djatmiko. 2017. Partial Biochemical Characterization of Crude Extract Extracellular Chitinase Enzyme from *Bacillus subtilis* B 298. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 172: 012041
- Li, B., Wang, X., Chen, R., Huangfu W., and Xie G.L. 2008. Antibacterial activity of chitosan solution against *Xanthomonas* pathogenic bacteria isolated from *Euphorbia pulcherrima*. *Carbohydr. Polym.* 72: 287-292
- Liu, H., Tian, W., Li, B., Wu, G., and Ibrahim, M. 2012. Antifungal effect and mechanism of chitosan against the rice sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani*. *Biotechnol. Lett.* 34:2291-2298
- Maurya MK, Singh R and Tomer A. 2014. In vitro evaluation of antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* against fungal pathogen. *JBiopest* 7(1):43-46
- Meng, X., Yang, L., Kennedy, J.F. and Tian, S. 2010. Effects of chitosan and oligochitosan on growth of two fungal pathogens and physiological properties in pear fruit. *Carbohydr. Polym.* 81:70-75
- Monteiro, L, Mariano, RLR, and Souto-Maior, AM. 2005. Antagonism of *Bacillus* spp. Against *Xanthomonas campestris* pv. *campestris*. *Brazilian Archives Of Biology And Technology*. 48(1): 23-29
- Mulyaningsih ES, Indrayani S, & Slamet-Loedin IH. 2005. Analisis molekuler dan uji ketahanan tanaman padi transgenik yang mengandung gen kitinase generasi ke tiga(T2) terhadap *Rhizoctonia solani* Kuhn dan *Pyricularia oryzae*. Cav. *Jurnal Biosfera*. 22(3): 42- 151.
- Nuryanto, B. 2017. Penyakit Hawar Pelepah (*Rhizoctonia solani*) pada Padi dan Taktik Pengelolaannya. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 21 (2): 63–71
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., and Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*. 399 (16): 2693-2700
- Prihatiningsih, N. 2013. Aktivitas antibiosis *Bacillus* sp. B315 sebagai agen pengendali hayati *Ralstonia solanacearum* pada kentang. [Disertasi]. Program

- Pascasarjana Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
[Indonesian]
- Prihatiningsih, N. dan Djatmiko, H.A. 2016. Enzim Amilase sebagai Komponen Antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* Kentang. J HPT Tropika 16(1): 10-16
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H.A., Lestari, P. 2017. Aktivitas Siderofor *Bacillus subtilis* sebagai Pemacu Pertumbuhan dan Pengendali Patogen Tanaman Terung. J HPT Tropika. 17(2): 170-178
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H.A., Erminawati. 2019. Bio-management of anthracnose disease in chilli with microencapsulates containing *Bacillus subtilis* B298. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 250 (2019) 012041
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H.A., Lestari, P. 2020a. Screening of Competent Rice Root Endophytic Bacteria to Promote Rice Growth and Bacterial Leaf Blight Disease Control. J HPT Tropika 20 (1): 78-84
- Prihatiningsih, N., Erminawati, Djatmiko, H.A. 2020b. Shelf-life of *Bacillus subtilis* B298 inclusion in biopesticide microcapsule formula and its efficacy in suppressing anthracnose disease on chili. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science 468 (2020) 012027
- Rabea, E.L., and Steurbaut W., 2010. Chemically modified chitosan as antimicrobial agents against some plant pathogenic bacteria and fungi. Plant Protect. Sci. 46: 149-158
- Rajarajeswari N.V.L., Muralidharan K. 2006. Assessments of farm yield and district production loss from bacterial leaf blight epidemics in rice. Crop Protection 25: 244–252
- Savary, S., Castilla, N. P., Elazegui, F. A., McLaren, C. G., Ynalvez, M. A., and Teng, P. S. 1995. Direct and indirect effects of nitrogen supply and disease source structure on rice sheath blight spread. Phytopathology 85:959-965.
- Singh, R. P., Handa, R., & Manchanda, G. (2020). Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *Journal of Controlled Release*. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.10.051>
- Sudir, B. Nuryanto, dan Triny S. Kadir. 2012. Epidemiologi, Patotipe, dan Strategi Pengendalian Penyakit Hawar Daun Bakteri pada Tanaman Padi. IPTEK Tanaman Pangan. 7 (2): 79-87
- Sudir, Y.A. Yogi, dan Syahri. 2013. Komposisi dan sebaran patotipe *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* di sentra produksi padi di Sumatera Selatan. Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan 32(2): 98-108.
- Sulistyo, H., Kurniawan, D. W., & Rujito, L. (2017). Biochemical and histopathological effects of green tea nanoparticles in ironized mouse model. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 12(2), 99–106.
- Wahyudi AT, Meliah S. Nawangsih AA. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* bakteri penyebab hawar daun pada padi: isolasi, karakterisasi, dan telaah mutagenesis dengan transposon. Makara, Sains 15 (1): 89-96
- Worrall, E.A., Hamid, A., Mody KT, Mitter N. and Pappu H.R. 2018. Nanotechnology for Plant Disease Management. *Agronomy*. 8, 285: 24 p

- Yudhasasmita, S., dan Nugroho, A.P. 2017. Sintesis an Aplikasi Nanopartikel Kitosan sebagai Adsorben Cd dan Antibakteri Koliform. *Biogenesis* 5(1): 42-48
- Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Gavrilović, V., Popović, T., Balaž, J. (2010): Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Archives of Biological Science* 62(3): 611-623.

LAMPIRAN LUARAN PENELITIAN

A. LUARAN WAJIB

1. Produk Biopestisida formula Nanosuspensi

Leaflet Biopestisida NANO-BAS dan produk biopestisida NANO-BAS

2. Paten Sederhana No S00202110644

(Nomor pendaftaran paten dan Deskripsi Paten)

B. LUARAN TAMBAHAN

1. Jurnal Nasional Terakreditasi (Sinta 2) Jurnal Biodjati UIN Sunan Gunung Djati Bandung

2. Seminar Nasional di LPPM tanggal 12-14 Oktober 2021



**Biopestisida Nanosuspensi
NANOBAS**



Cara Aplikasi

Satu mililiter nanosuspensi dilarutkan dengan 2,5 liter air, dibiarkan selama 2 jam sambil sesekali dikocok agar merata, kemudian diaplikasikan untuk perendaman benih, penyiraman di sekitar tanaman dan penyemprotan pada daun dan bagian tanaman yang bergejala penyakit



Tanaman padi sehat

Deskripsi

Formula biopestisida ini dibuat dengan teknologi nano dengan bahan aktif *Bacillus subtilis* B315



Penyakit hawar daun bakteri

Kegunaan

Efektif untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri padi, disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

Contact Person

WA : 081327044290
Email : prihatiningsihnur@gmail.com
Alamat : Fakultas Pertanian Unsoed

FORMULIR PERMOHONAN PENDAFTARAN PATEN INDONESIA
APPLICATION FORM OF PATENT REGISTRATION OF INDONESIA

Data Permohonan (Application)			
Nomor Permohonan Number of Application	: S00202110644	Tanggal Permohonan Date of Submission	: 25-Nov-2021
Jenis Permohonan Type of Application	: PATEN SEDERHANA	Jumlah Klaim Total Claim	: 1
		Jumlah halaman Total page	: 9
Judul Title	: KOMPOSISI DAN PEMBUATAN NANOBIOPESTISIDA Bacillus subtilis B315		
Abstrak Abstract	: KOMPOSISI DAN PEMBUATAN NANOBIOPESTISIDA Bacillus subtilis B315 Invensi berkaitan dengan teknik penyusunan komposisi dan pembuatan biopestisida dalam formula nanopartikel berbasis Bacillus subtilis B315. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bahan-bahan penyusun nanobiopestisida agar menjadi suatu formula nanopartikel yang sesuai untuk pengendalian patogen tanaman, sehingga lebih stabil, daya larutnya lebih tinggi,efektivitasnya meningkat. Sebagai bahan aktif formula nanobiopestisida adalah B. subtilis B315 yang diisolasi dari rizosfer kentang sehat. Komposisi nanobiopestisida B. subtilis B315 adalah supernatan B. subtilis B315, larutan kitosan, larutan TPP (Tripoliphosphat) 0,1%. Pembuatan nanobiopestisida tersebut adalah dengan mencampur 0,5 mL supernatan B. subtilis B315 dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuse ditambah 490 µL dari 2 g kitosan dalam larutan asam asetat 1% pH 4,0-5,0 dihomogenkan dengan vortex 20 detik. Kemudian ditambahkan 10 µL larutan TPP 0,1% dan segera dihomogenkan dengan vortex 20 detik. Morfologi nanopartikel diamati dengan SEM sedangkan ukuran dan distribusi nanopartikel diamati menggunakan Particle Size Analyzer (PSA).		

Permohonan PCT (PCT Application)			
Nomor PCT PCT Number	:	Nomor Publikasi Publication Number	:
Tanggal PCT PCT Date	:	Tanggal Publikasi Publication Date	:

Pemohon (Applicant)		
Name (Name)	Alamat (Addresss)	Surel/Telp (Email/Phone)
Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM). UNSOED	Jalan Dr. Soeparno, Grendeng. Purwokerto Utara, Provinsi Jawa Tengah.	0281625739 sentra.hki@unsoed.ac.id

Penemu (Inventor)			
Nama (Name)	Warganegara (Nationality)	Alamat (Address)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S	Indonesia	Fakultas Pertanian Unsoed	nur.prihatiningsih@unsoed.ac.id 081327044290
Dhadhang Wahyu Kurniawan, S.Si.Apt., M.Sc	Indonesia	Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan Unsoed	dhadhang.kurniawan@unsoed.ac.id 081638662507
Dr. Ir. Heru Adi Djatmiko, M.P	Indonesia	Fakultas Peternakan Unsoed	heru.djatismiko@unsoed.ac.id 081327044292

Data Prioritas (Priority Data)		
Negara (Country)	Nomor (Number)	Tanggal (Date)

Korespondensi (Correspondence)		
Nama (Name)	Alamat (Alamat)	Surel/Telp. (Email/Phone)
Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM). UNSOED	Jalan Dr. Soeparno, Grendeng. Purwokerto Utara, Provinsi Jawa Tengah.	sentra.hki@unsoed.ac.id 082225359911

Lampiran (Attachment)
KLAIM
ABSTRAK
SURAT PENGALIHAN HAK ATAS INVENSI
SURAT PERNYATAAN KEPEMILIKAN INVENSI OLEH INVENTOR
DESKRIPSI

Detail Pembayaran (Payment Detail)			
No	Nama Pembayaran	Sudah Bayar	Jumlah Data
1.	Pembayaran Permohonan Paten	☒	-
2.	Pembayaran Kelebihan Deskripsi	☐	-
3.	Pembayaran Kelebihan Klaim	☐	-
4.	Pembayaran Percepatan Pengumuman	☐	-
5.	Pembayaran Pemeriksaan Substantif	☒	-

Jakarta, 25-Nov-2021
Pemohon / Kuasa
Applicant / Representative



Tanda Tangan / Signature
Nama Lengkap / Fullname

Anda telah berhasil melakukan pembayaran permohonan pemeriksaan Substantif, dengan data sebagai berikut :

Jenis Permohonan Paten : PATEN SEDERHANA

Nomor Permohonan Paten : S00202110644

Tanggal Penerimaan Permohonan Paten : 25-NOV-21

Judul Invensi : KOMPOSISI DAN PEMBUATAN NANOBIOPESTISIDA Bacillus subtilis B315

Nama Pemohon	Alamat Pemohon	Nomor Telepon	Email	Warganegara
Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM). UNSOED	Jalan Dr. Soeparno, Grendeng. Purwokerto Utara, Provinsi Jawa Tengah.	0281625739	sentra.hki@unsoed.ac.id	Indonesia

Konsultan/Non Konsultan - Data Korespondensi

Melalui Kuasa Non Kuasa	: Non Konsultan
Nama Konsultan / Non Konsultan	: Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM). UNSOED
Alamat Konsultan KI	: Jalan Dr. Soeparno, Grendeng. Purwokerto Utara, Provinsi Jawa Tengah.
Nomor Telepon Konsultan	: 082225359911
Email Konsultan	: sentra.hki@unsoed.ac.id

Detail Pembayaran

Kode Billing : 820211119466278

Tanggal Pembayaran : 19/11/2021

Jumlah Yang Dibayarkan : Rp 500,000

Jakarta, 25 November 2021
Pemohon / Kuasa
Applicant / Representative



Tanda Tangan / Signature
Nama Lengkap / Fullname

KOMPOSISI DAN PEMBUATAN NANOBIOPESTISIDA *Bacillus subtilis* B315**Bidang Teknik Invensi**

10 Invensi ini berhubungan dengan teknik penyusunan komposisi dan pembuatan biopestisida dalam formula nanopartikel berbasis *Bacillus subtilis* B315. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan menyusun komposisi yang tepat dan cara pembuatan nanobiopestisida atau formula biopestisida nanopartikel. Nanobiopestisida ini
15 berbahan aktif *B. subtilis* B315.

Latar Belakang Invensi

B. subtilis B315 merupakan bakteri yang diisolasi dari rizosfer kentang sehat diantara tanaman yang sakit. Bakteri
20 tersebut telah melalui serangkaian pengujian potensinya sebagai agens pengendali hayati untuk mengendalikan penyakit layu yang disebabkan oleh bakteri *Ralstonia solanacearum* pada tanaman kentang, cabai, tomat dan terung. Penyakit layu bakteri ini dikenal sebagai penyakit yang mematikan (*lethal disease*) karena dapat
25 menggagalkan panen apabila penyakit muncul sejak tanaman muda. Kerugian hasil tanaman karena penyakit layu bakteri dapat mencapai kisaran 60-100%, tergantung kondisi lingkungan dan varietas. Upaya pengendalian yang masih diterapkan sampai saat ini adalah penggunaan bakterisida sintetik. Namun aplikasi yang secara terus
30 menerus dapat menimbulkan efek negatif, antara lain ikut mematikan bakteri berguna, dan meninggalkan residu yang merugikan terhadap lingkungan. Selain itu dapat menimbulkan ketahanan tanaman terhadap patogen, sehingga menimbulkan strain atau ras baru yang dapat lebih virulen. Oleh karena itu perlu dicari upaya
35 pengendalian yang berwawasan lingkungan, aman dan efektif serta dapat berpengaruh positif pada pertumbuhan dan hasil tanaman. Bakteri rizosfer *B. subtilis* B315 diketahui mampu sebagai agens

5 pengendali hayati pada tanaman, baik dalam formula cair maupun formula makroenkapsulan. *B. subtilis* B315 mempunyai keunggulan antara lain mampu bekerja lebih baik dibanding bakteri antagonis lainnya karena mampu menghasilkan protease ekstraselular. Protease yang dihasilkan ini berpotensi sebagai pengendali *R. solanacearum*
10 karena mampu mendegradasi biofilm dari *R. solanacearum*, sehingga kemampuan bakteri ini berkurang dalam proses infeksi. Bakteri antagonis yang termasuk genus *Bacillus* sp. mempunyai keunggulan antara lain mudah didapat, dipelihara, mampu menghasilkan antibiotika, enzim dan senyawa semacam zat pengatur tumbuh auksin,
15 sehingga berpengaruh positif pada tanaman dan lingkungan. Biopestisida berbahan aktif *B. subtilis* B315 secara molekular homolog dengan *B. subtilis* strain WIFD5, telah dibuat sebagai biopestisida formula cair (Paten Sederhana No IDS000003470). Formula mikroenkapsulan *B. subtilis* B298 digunakan pada tanaman
20 serta penyakit yang berbeda yaitu antraknosa cabai (Paten Sederhana No IDS000002704) efektif menekan intensitas penyakit antraknosa sebesar 48% dan menekan pertumbuhan *Colletotrichum* sp. *in vitro* mencapai 56%. Penelitian sebelumnya tentang formula cair berbasis *B. subtilis* B315 efektif mengendalikan penyakit layu bakteri
25 kentang sebesar 64,2%. Oleh karena itu pada invensi ini disusun suatu formula nanopartikel biopestisida berbasis dari *B. subtilis* B315 agar daya kerjanya lebih efektif, daya simpannya lebih lama dan lebih mudah dalam transportasi. Berdasarkan paten no US 9,491.946 B2, 2016, dinyatakan bahwa komposisi nanokomposit
30 terdiri atas silver/silika yang merupakan matrik silika gel terdiri atas 45 ion silver dimana silver kurang lebih 10 ng/mL ke 100 mg/mL dari silver/silika nanocomposite.

5 Invensi baru tentang pembuatan dan aplikasi nanopartikel dapat sebagai antimikroba, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri (US paten No 9,491.946 B2, oleh Santra dan Menezes, 2016).

10 *B. subtilis* B315 sebagai bahan aktif biopestisida dalam formulasi nanopartikel dibuat agar lebih efektif dalam pengendalian penyakit tanaman yang memenuhi syarat yaitu yang siap pakai, aman terhadap lingkungan, dan berpengaruh positif pada tanaman. Komposisi nanopartikel ada beberapa macam, namun dalam hal ini menggunakan bahan bahan yang mudah didapat, dan memenuhi standar sebagai bahan penyusun nanopartikel. Diharapkan

15 dengan tersedianya nanobiopestisida berbahan aktif *B. subtilis* B315 strain asli Indonesia akan dapat dimanfaatkan sebagai pengendali penyakit tanaman karena dapat menurunkan intensitas penyakit. *B. subtilis* B315 dipilih sebagai bahan aktif pembuatan nanobiopestisida karena selain sebagai biokontrol juga mampu

20 meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman, yang selanjutnya akan berdampak pada masyarakat secara luas karena akan meningkatkan pendapatan petani. Invensi sebelumnya yaitu pembuatan dan aplikasi nanopartikel dapat sebagai antimikroba, karena dapat menghambat pertumbuhan bakteri (US paten No 9,491.946 B2, oleh

25 Santra dan Menezes, 2016). Di Indonesia, Balittri mengembangkan biopestisida dengan teknologi nano dengan bahan dasar *Bacillus thuringiensis* dapat menyebabkan kematian serangga *Trichoplusia ni* hingga 100%. Nanobiopestisida berbahan dasar bunga cengkeh dapat meningkatkan kandungan eugenol sebesar 9,9% dan menurunkan

30 populasi *Nilaparvata lugens*, serta relatif aman bagi musuh alami. Efektifitas nanobiopestisida ekstrak daun cengkih dengan dosis 0,2% efektif menghambat perkecambahan jamur karat kopi *Hemileia vastatrix* skala laboratorium.

35 Formulasi nanobiopestisida ada beberapa diantaranya dengan nanoemulsi. Partikel nano berukuran 10^{-9}m , diharapkan dapat meningkatkan efisiensi dan efektivitas bahan aktif. Selanjutnya

5 dengan sentuhan enkapsulasi bahan aktif akan lebih stabil dan
metabolitnya tidak mudah menguap. Nanopestisida terdiri atas
partikel kecil dari bahan aktif pestisida atau struktur kecil dari
bahan aktif yang berfungsi sebagai pestisida. Nanoemulsi dan
nanoenkapsulasi adalah salah satu tehnik nanopestisida yang sudah
10 banyak digunakan dan efektif untuk pengendalian penyakit tanaman.

Pestisida nanopartikel diperoleh dari mikroemulsi dan
nanoemulsi seperti yang tercantum dalam United States paten no US
9.095.133 B2, disebutkan bahwa penyiapan nanoemulsi dan
mikroemulsi dan pelarutnya. Komposisi pestisida ini terdiri atas
15 tepung *redispersibel* yang dalam pertanian dapat membunuh hama.
Namun belum diungkapkan spesifikasi formulanya. Penentuan
komposisi nanopartikel didasarkan pada tingkat kelarutan,
biodegradable dan kompatibilitas dengan bahan lainnya.
Perlakuannya pada benih tanaman, penyemprotan, dan inokulasi
20 buatan seperti pada bakteri pemfiksasi nitrogen selama pertumbuhan
tanaman. Pada deskripsi ini diutamakan tentang komposisi dan cara
pembuatan nanobiopestisida, agar lebih efektif dan berhasilguna
dalam pengendalian penyakit tanaman dan berpengaruh positif pada
tanaman, serta aman terhadap lingkungan.

25 Tujuan dari invensi ini adalah menentukan komposisi yang
tepat dan cara pembuatan nanobiopestisida *B. subtilis* B315 sebagai
biobakterisida dan biofungisida yang mampu mengendalikan patogen
tanaman.

30 **Uraian Singkat Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan teknik penyusunan komposisi dan
pembuatan biopestisida dalam formula nanopartikel berbasis *B.*
subtilis B315. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan menyusun
komposisi yang tepat dan cara pembuatan nanobiopestisida atau
35 formula biopestisida nanopartikel. Nanobiopestisida ini berbahan
aktif *B. subtilis* B315. Tujuan dari invensi ini menentukan

5 komposisi yang tepat dan cara pembuatan nanobiopestisida *B. subtilis* B315 sebagai biobakterisida dan biofungisida yang mampu mengendalikan patogen tanaman.

Invensi tentang komposisi dan pembuatan nanobiopestisida akan bermanfaat dalam pengendalian penyakit tanaman khususnya penyakit
10 karena bakteri dan jamur pada padi. Teknologi nanobiopestisida meningkatkan efisiensi, stabilitas, kelarutan dan efektivitas serta aman bagi lingkungan dan tanaman yang diaplikasikan dengan nanobiopestisida.

15 **Uraian Lengkap Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan teknik penyusunan komposisi dan pembuatan biopestisida dalam formula nanopartikel berbasis *Bacillus subtilis* B315. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bahan-bahan penyusun nanobiopestisida agar
20 menjadi suatu formula nano yang sesuai untuk pengendalian patogen tanaman. Sebagai bahan aktif formula nanobiopestisida adalah *B. subtilis* B315 yang diisolasi dari rizosfer kentang sehat di daerah Pratin Kecamatan Karangreja Kabupaten Purbalingga, sebagai isolat indegenus. Berdasarkan karakter yang dimiliki oleh *B. subtilis*
25 B315 mampu sebagai pengendali bakteri patogen *R. solanacearum* penyebab penyakit layu pada beberapa tanaman solanaceae, dan terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in vitro, maka disusunlah formula biopestisida dalam teknologi nanopartikel. Kelebihan formula nanobiopestisida adalah bentuk emulsi nano dan kapsul nano
30 yang meningkatkan kelarutan, stabilitas dan efektifitas biopestisida berbahan aktif *B. subtilis* B315. Komposisi bahan yang kompatibel sangat mendukung dalam proses pembuatan nanobiopestisida. Mekanisme antagonistik dari nanobiopestisida adalah antibiosis, yang secara in vitro ditunjukkan dengan
35 terbentuknya zona bening di sekitar paperdisk yang telah ditetesi 10 µl nanosuspensi *B. subtilis* B315. Metabolit sekunder yang

5 dihasilkan oleh *B. subtilis* B315 sebagai aktivitas antibiosis dalam pengendalian patogen tanaman dapat berupa enzim, protein, antibiotik, alkaloid dan siderofor. Nanobiopestisida yang berbahan aktif bakteri *Bacillus* telah ada yaitu *B. thuringiensis* yang berperan sebagai pengendali hama. Isolat *B.methyilotropicus*
10 ditemukan di Korea tahun 2010 mampu sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

Pemanfaatan bakteri *B. subtilis* B315 sebagai bahan aktif nanobiopestisida ini menguntungkan, dan dampak yang dirasakan bagi petani adalah tersedianya biopestisida yang mampu bersaing dengan
15 pestisida sintetik. Namun lebih ramah lingkungan karena aman bagi lingkungan dan berpengaruh positif pada tanaman bahkan dapat memacu pertumbuhan dan hasil tanaman. Berdasarkan uraian di atas, dapat disampaikan bahwa invensi ini merupakan teknik mendapatkan komposisi yang tepat nanobiopestisida *B. subtilis* B315 yang
20 bermanfaat sebagai biobakterisida untuk mengendalikan bakteri patogen tanaman dan menguntungkan bagi tanaman.

Invensi ini memiliki nilai orisinal karena dimulai dari mengeksplor bakteri rizosfer kentang sehat. Hasil isolat murni kemudian dilakukan uji fisiologi, biokimia dan molekular yang
25 homolog dengan *B. subtilis* strain WIFD5 berdasarkan *Genbank*. Selanjutnya dimanfaatkan sebagai bahan aktif biobakterisida formula nanopartikel atau nanobiopestisida untuk mengendalikan bakteri dan jamur patogen padi.

Tujuan invensi adalah menentukan komposisi yang tepat dan
30 cara pembuatan nanobiopestisida *B. subtilis* B315 sebagai biobakterisida dan biofungisida yang mampu mengendalikan patogen tanaman.

Proses pembuatan nanobiopestisida berbahan aktif *B. subtilis* B315 dengan komposisi bahan supernatan *B. subtilis* B315, larutan
35 kitosan, larutan TPP (Tripoliphosphat) 0,1% sebagai berikut:

- 5 1. *B. subtilis* B315 ditumbuhkan pada medium NB digojog 2x24 jam
pada 150 rpm suhu kamar, kemudian disentrifuse 3000 rpm selama
15 menit pada suhu kamar, supernatan yang diperoleh digunakan
sebagai bahan aktif.
- 10 2. Kitosan sebanyak 2 gram dilarutkan dalam asam asetat 1% hingga
200 mL
3. Supernatan *B. subtilis* B315 sebanyak 0,5mL dimasukkan ke dalam
tabung mikrosentrifuse berisi 490 μ L larutan kitosan dalam asam
asetat 1% pH 4,0-5,0, digojog dengan vortex selama 20 detik.
- 15 4. Campuran yang telah homogen pada no 3 ditambah 10 μ L larutan
TPP 0,1% dan dihomogenkan kembali dengan vortex selama 20 detik.
- 20 5. Evaluasi sediaan nanopartikel dilakukan dengan mengamati bentuk,
bau, warna (organoleptik), pH (dengan alat indikator pH), volume
sedimentasi (disentrifuse 1300 rpm 15 menit diamati endapan yang
terbentuk) dan pengamatan morfologi nanopartikel dengan SEM
(*Scanning Electron Microscope*), selanjutnya ukuran nanopartikel
dengan PSA (*Particle Size Analyzer*).

25

30

35

5 **Klaim**

1. Komposisi nanobiopestisida *B. subtilis* B315 adalah supernatan *B. subtilis* B315, larutan kitosan, larutan TPP (*Tripoliphosphat*) 0,1%; Pembuatan nanobiopestisida tersebut adalah dengan mencampur 0,5 mL supernatan *B. subtilis* B315 dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuse ditambah 490 µL dari 2 g kitosan dalam larutan asam asetat 1% pH 4,0-5,0 dihomogenkan dengan vortex 20 detik; Kemudian ditambahkan 10 µL larutan TPP 0,1% dan segera dihomogenkan dengan vortex 20 detik; Morfologi nanopartikel diamati dengan SEM sedangkan ukuran dan distribusi nanopartikel diamati menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA).

20

25

30

35

ABSTRAK**KOMPOSISI DAN PEMBUATAN NANOBIOPESTISIDA *Bacillus subtilis* B315**

10 Invensi berkaitan dengan teknik penyusunan komposisi dan pembuatan biopestisida dalam formula nanopartikel berbasis *Bacillus subtilis* B315. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bahan-bahan penyusun nanobiopestisida agar menjadi suatu formula nanopartikel yang sesuai untuk pengendalian

15 patogen tanaman, sehingga lebih stabil, daya larutnya lebih tinggi,efektivitasnya meningkat. Sebagai bahan aktif formula nanobiopestisida adalah *B. subtilis* B315 yang diisolasi dari rizosfer kentang sehat. Komposisi nanobiopestisida *B. subtilis* B315 adalah supernatan *B. subtilis* B315, larutan kitosan, larutan

20 TPP (*Tripoliphosphat*) 0,1%. Pembuatan nanobiopestisida tersebut adalah dengan mencampur 0,5 mL supernatan *B. subtilis* B315 dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuse ditambah 490 µL dari 2 g kitosan dalam larutan asam asetat 1% pH 4,0-5,0 dihomogenkan dengan vortex 20 detik. Kemudian ditambahkan 10 µL larutan TPP

25 0,1% dan segera dihomogenkan dengan vortex 20 detik. Morfologi nanopartikel diamati dengan SEM sedangkan ukuran dan distribusi nanopartikel diamati menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA).

BUKTI SUBMIT ARTIKEL



Home > Vol 6, No 1 (2021)

Jurnal Biodjati

Jurnal Biodjati (p-ISSN: 2548-1606, e-ISSN: 2541-4208) is an Open Access Journal published by Department of Biology, Faculty of Science and Technology, UIN Sunan Gunung Djati Bandung, and established since 2016. Jurnal Biodjati aims to provide scientific information on the results of research that is originality, which is focused on biological cases such as botany, zoology, microbiology, ecology, biosystematics and taxonomy, genetics molecular, biotechnology, environmental cases, ethnobiology.



Jurnal Biodjati has collaborate with :



Announcements

Jurnal Biodjati Accredited by Indonesian Government

Based on Decree of The Director General of Research And Development Strengthening, **Ministry of Research, Technology, And Higher Education, Republic of Indonesia nr. 34/E/KPT/2018**, Jurnal Biodjati is accredited to rank 2 from 2018. The accreditation is valid for 5 years.

EDITORIAL TEAM
REVIEWER
FOCUS AND SCOPE
AUTHOR GUIDELINES
ONLINE SUBMISSION
PUBLICATION ETHICS
INDEXING-SITE



NOTIFICATIONS

» View
» Subscribe

Visitors

HOME ABOUT USER HOME SEARCH CURRENT ARCHIVES ANNOUNCEMENTS

Home > User > Author > Active Submissions

Active Submissions

ACTIVE ARCHIVE

ID	MM-DD SUBMIT	SEC	AUTHORS	TITLE	STATUS
14703	10-27	ART	Prihatiningsih	BACILLUS SUBTILUS POTATO ISOLATE AS BIOCONTROL TO...	Awaiting assignment

1 - 1 of 1 Items

Start a New Submission

CLICK HERE to go to step one of the five-step submission process.

Reffbacks

ALL NEW PUBLISHED IGNORED

DATE ADDED	HITS	URL	ARTICLE	TITLE	STATUS	ACTION
---------------	------	-----	---------	-------	--------	--------

EDITORIAL TEAM
REVIEWER
FOCUS AND SCOPE
AUTHOR GUIDELINES
ONLINE SUBMISSION
PUBLICATION ETHICS
INDEXING-SITE
ASSOCIATION
EVENT
AUTHOR FEES



PHP Quick Profiler

Details Metrics

Type here to search



30°C Hujan

***Bacillus subtilis* POTATO ISOLATE AS BIOCONTROL TO
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae***

Nur Prihatiningsih¹, Dhadhang Wahyu Kurniawan², dan Heru Adi Djatmiko¹

¹ Fakultas Pertanian UNSOED

² Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan UNSOED

Jl. dr. Suparno Purwokerto Jateng 53123

Korespondensi : nur.prihatiningsih@unsoed.ac.id

Diterima / Disetujui

ABSTRACT

Bacillus subtilis potato isolate was able to be an antagonist of plant pathogens, both bacteria and fungi. The aims of this study were (1) to examine the potential of potato isolate *B. subtilis* as a control for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) pathogenic rice bacterial leaf blight, (2) determine the suppression mechanism of potato isolate *B. subtilis* against *Xoo*. The test method was carried out in a completely randomized design with 5 treatments of *B. subtilis* potato isolates B46, B209, B211, B298 and B315, repeated 4 times. *Xoo* and five *B. subtilis* were grown in nutrient broth medium in a shaker for 2 days at 150 rpm room temperature. *Xoo* and *B. subtilis* were grown in dual culture on yeast extract peptone glucose agar medium by the diffusion method, *Xoo* was grown by pourplate then each suspension of *B. subtilis* was immersed in 5 mm diameter filter paper, placed on *Xoo* bacteria medium. The variables are zone of inhibition, inhibition mechanism and antibiosis index. The results showed that only three *B. subtilis* were able to inhibit the growth of *Xoo*, namely isolates B211, B298 and B315 with the largest inhibition zone being 10 mm by isolates *B. subtilis* B315. The mechanism of inhibition of the three isolates of *B. subtilis* against *Xoo* was bacteriostatic. The antibiosis index of *B. subtilis* B315 against *Xoo* was 1 (strong). The selected *B. subtilis* could be developed as a liquid or solid biopesticide formula.

Key words: antibiosis, *Bacillus subtilis*, mechanism, rice, *Xanthomonas*

INTRODUCTION

Bacillus subtilis is known as a useful bacterium that can be used as an antagonist against plant pathogens. *B. subtilis* can be explored from soil, water, air, plant surfaces and endophytes from plant tissues such as roots, stems, sheath and leaves. *B. subtilis* is an antagonistic bacterium that is Gram positive, rod-shaped, 7-8 x 2-3 μ m, flagellated, aerobic, not encapsulated, have endospores that are ovoid to cylindrical, measuring 0.6-0.9 x 1.0-1.5 μ m, thin-walled. Spores are

formed generally within 24 hours (Gordon et al., 1973). One of the strong characteristics that bacteria are classified into *Bacillus* is their ability to form endospores under extreme conditions. *Bacillus* endospores can be grouped into 3 based on endospore morphology, namely: (I) oval or cylindrical spores located in the middle, subterminal or terminal, swollen rods, or not swollen, (II), oval, slightly cylindrical spores, subterminal or terminal, stems do not swell, (III) spores

are spherical, subterminal or terminal, rods are swollen (Chun & Vidaver, 2001).

B. subtilis isolated from potato rhizosphere, has been selected to obtain five superior isolates, namely *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 and B315. Molecularly *Bacillus* isolates B46, B209, B211, B298 are homologous to *B. subtilis* subsp. *spizizeni* RRLKE2, while B315 is homologous to *B. subtilis* strain WIFD5 (Prihatiningsih et al. 2020a). *B. subtilis* potato isolate has been tested for control of bacterial wilt disease by *Ralstonia solanacearum* of potatoes, tomatoes, tobacco and chilies. Control effectiveness varies both in the greenhouse and in different fields. This shows that its effectiveness depends on weather conditions, plant age and population density of *B. subtilis*.

Control of potato *R. solanacearum* with *B. subtilis* B315 was 64.9% effective, while tomato, chili and eggplant in the lowlands reached 74.6% with a population density of 10^8 cfu.mL⁻¹ (Prihatiningsih, 2013; Prihatiningsih and Djatmiko, 2016). *B. subtilis* is also reported to be able to produce IAA (*Indole Acetic Acid*) in the range of 57.56-79.33 ppm, so that it can stimulate plant growth (Prihatiningsih et al., 2020b). *Bacillus* spp. consortium. indigenous can control *Colletotrichum capsici* and increase chili growth (Yanti et al, 2020). *B. amyloliquefaciens* can reduce the incidence of tomato bacterial wilt, suppress the population of *R. solanacearum* and improve the growth of tomato plants (Singh et al., 2016).

The mechanism of controlling pathogens with *Bacillus* is antibiosis, which is to inhibit pathogens by producing compounds such as antibiotics, enzymes and other volatile compounds. In vitro testing of mechanism character antibiosis is

characterized by the formation of a bright zone around the antagonist colony. The liquid formula of *B. subtilis* B315 as a controller of *R. solanacearum* in vitro showed effectiveness with an inhibition zone of 18 mm with an antibiosis inhibition mechanism indicated by the enzymes amylase, chitinase and proteases produced (Prihatiningsih and Djatmiko, 2016; Lestari et al, 2017; Prihatiningsih, 2020; Prihatiningsih et al. 2021).

Based on the ability of this potato isolate *B. subtilis*, in this study it was cross tested to other plants, namely against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* which causes bacterial leaf blight of rice. Evaluation of pathogen inhibition by antagonistic bacteria can be measured by the size of the inhibition zone, such as measuring the diameter of the clear zone to calculating the area of the inhibition potential. Based on these data, an antibiotic index can be calculated. The mechanism of antagonistic bacteria inhibiting pathogenic bacteria is bacteriostatic and bactericidal (Goto, 1992).

Rice bacterial leaf blight caused by *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) is an important disease and has long been recognized as a bacterial disease of rice in Asia (Naqvi et al., 2014) and then thoroughly in several locations of rice cultivation. Yield losses varied up to 20% under moderate conditions and more than 50% in conditions conducive to disease development such as varieties, plant growth stages and weather conditions. This bacterial rice blight disease was once an epidemic during 1998 in the Palakkad area of Kerala and since then several proportions have been observed each year (Swamy et al., 2006; Kala et al., 2015). Several disease management tactics such as the use of resistant plants based on a single gene

(monogenic), so it can gradually break its resistance.

Symptoms of bacterial leaf blight caused in the form of elongated spots starting from the tips of the leaves are white to gray with irregular wavy edges, dry, occurring during the vegetative period of the plant called crackle symptoms, and during the generative period of the plant the symptoms are called blight (Shanti et al., 2010; Noer et al., 2018). If the pathogen attacks when the plant is nearing maturity, the leaves turn pale yellow. The control that has been done so far has not been able to solve the problem of this Xoo attack. Based on the description above, it is necessary to carry out biological control with *B. subtilis*.

The aims of this study were (1) to test the potential of potato isolate *B. subtilis* as a control for *X. oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) pathogenic rice bacterial leaf blight, (2) determine the suppression mechanism of potato isolate *B. subtilis* against Xoo.

MATERI AND METHODE

Preparation of research materials

The research materials used were *B. subtilis* B315 potato isolate (Prihatiningsih collection), Xoo bacteria isolate from Karangwangkal Purwokerto rice. Medium NB (nutrient broth), YPGA (yeast peptone glucose agar), peptone water, filter paper, Petri dish, erlenmeyer, Ose needle, stationery, LAF etc. The research was carried out from February to May 2021. The research method was carried out experimentally at the Plant Protection Laboratory, Faculty of Agriculture UNSOED Purwokerto. The design used was a completely randomized design with 5 treatments and 4 replications.

Bacterial antagonist test of *B. subtilis* against Xoo

Five isolates of *B. subtilis* from potato rhizosphere, namely *B. subtilis* B46, B209, B211, B298 and B315 were tested for their inhibition against Xoo by the agar diffusion method using filter paper with a diameter of approximately 6 mm according to the method of Balouiri et al. (2016). Xoo as the tested pathogenic bacteria was grown on NB medium shaken at 150 rpm at room temperature for 24 hours. Bacterial density Xoo 10^8cfu.mL^{-1} was grown in 1 mL by pourplate on YPGA medium. The 6 mm diameter filter paper was dripped with 10 μL , then placed on the YPGA medium in 3 parts. The clear zone formed around the filter paper indicated the inhibition of Xoo growth.

Evaluation of Inhibition Mechanism

The percentage of inhibition, to evaluate the ability of antagonistic bacteria to inhibit Xoo, was carried out by measuring the inhibition zone formed. Measurement of inhibition using the method of Balouiri et al. (2016) by measuring the diameter of the clear zone, and the diameter of the colony (Figure 1). Inhibition measurement (P) was performed after 24 hours.

$P = \text{diameter zona terang (A)} - \text{diameter koloni bakteri antagonis (B) mm.}$ (Balouiri et al., 2016)

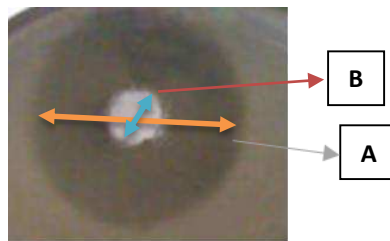


Figure 1. Antibiotic index measurement.
(A). Diameter of the clear zone, (B). diameter of the colony or filter paper

Antibiotic index

The antibiosis index was measured according to the enzyme index using the formula for measuring the chitinolytic index according to Halimahtussadiyah et al. (2017) or phosphate solvent produced by antagonistic bacteria, by measuring the diameter of the clear zone, and the diameter of the colony using the following formula:

$$IA = \frac{(\text{diameter zona} - \text{diameter koloni antagonis})}{\text{diameter koloni antagonis}}$$

atau

$$IA = (A-B) : B \quad (\text{Halimahtussadiyah et al., 2017})$$

Note: colony diameter=filter paper diameter

According to Stonier (1969 in Azizah, 2017), determination of the inhibition category grouped based on the index of inhibition or index of antibiosis, namely:

- Very Strong (>2.0) with symbol (+++)
- Strong (1.0 – 1.9) with symbol (++)
- Weak (0.1 – 0.9) with the symbol (+)
- Has no antagonistic ability (0.0) with the symbol (-)

RESULTS AND DISCUSSION

Inhibition of *B. subtilis* against Xoo

The results of this study included the selection of 5 isolates of *B. subtilis* (B46, B209, B211, B298 and B315) to be able to determine which isolates would be formulated for nanoparticles in the process of the next research stage. Selection of *B. subtilis* against pathogenic bacteria Xoo is shown in Table 1 and Figure 2.

Table 1. Inhibition of 5 isolates of *B. subtilis* against Xoo

<i>B. subtilis</i> isolate	Inhibition Zone (mm)	Inhibition mechanism
B46	-	-
B209	-	-
B211	9	bacteriostatic
B298	8	bacteriostatic
B315	10	bacteriostatic



Figure 2. Clear zone of inhibition of *B. subtilis* against Xoo

The mechanism of inhibition of *B. subtilis* against Xoo is bacteriostatic antibiosis, meaning that it is only able to inhibit the growth of Xoo but is not lethal. This was indicated by the cloudy peptone water which indicated that Xoo was still growing, while the bactericidal mechanism occurred when the peptone water remained clear, as same as the control (Figure 3), which was lethal.

The bacteriostatic mechanism of these five *B. subtilis* isolates was also shown against the pathogenic bacterium *Ralstonia solanacearum* that causes potato bacterial wilt disease (Prihatiningsih, 2013).



Figure 3. Bacteriostatic mechanism of *B. subtilis* isolate to *Xoo*

Antibiosis index

The highest antibiosis index was shown by isolate *B. subtilis* B315 of 1 and according to the category of inhibition index it was strong (++) (Figure 4). This indicates that *B. subtilis* B315 from potato rhizosphere has good prospects to be developed as a biological agent for biopesticides to control pathogenic bacteria not only in the habitat of *R. solanacearum* which causes potato bacterial wilt, but also against *Xoo* which causes rice bacterial leaf blight. *B. subtilis* isolates B46 and B209 in the inhibition test against potato *R. solanacearum* were able to inhibit, but after cross-testing against rice pathogenic bacteria the two isolates were unable to inhibit (-).

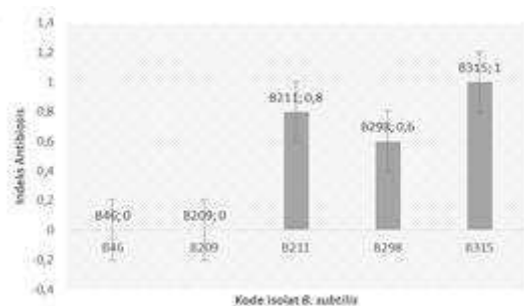


Figure 4. Antibiosis index of the five isolates of *B. subtilis*.

Antibiosis index is useful as an indicator that bacteria are capable of being antagonists against pathogens, both bacteria and fungi. Bacteria are able to control pathogenic fungi by producing the enzyme chitinase as an inhibitory mechanism because this enzyme degrades the cell walls of pathogenic fungi which consists mostly of

chitin (Halimahtussadiyah et al., 2017). Chitinase activity of *B. subtilis* B298 was detected at 15 hours of incubation, optimum temperature of 40°C and optimum pH of 5.0, respectively, at 6.936 U.mL⁻¹, 5.764 U.mL⁻¹ and 6.813 U.mL⁻¹ (Lestari et al., 2017). *B. subtilis* has the ability to inhibit pathogenic bacteria such as rice *Xoo* and potato *R. solanacearum* because it is known that these bacteria are capable of producing compounds as secondary metabolites in the form of proteases and siderophores. Proteases produced by antagonistic bacteria function as a degrading agent for the formation of biofilms of pathogenic bacteria and induce tolerance. plants against biotic and abiotic environmental stresses (Radhakrishnan et al., 2017). *B. subtilis* B315 produces a protease with an activity of 1.3185 U.mL⁻¹, effectively controlling chili wilt bacteria 60.89% and in vitro inhibition of *R. solanacearum* by 36 mm (Prihatiningsih et al. 2021). The ability of *B. subtilis* as a biological agent encourages the development of these bacteria to be arranged in a formula, either solid (microencapsulated) or liquid. The effectiveness of bacteria as antagonists is also seen from their ability to survive in a formula (*shelf-life*). *Shelf life* of *B. subtilis* B298 can be up to 5 weeks in microencapsulated formula, and this formula can be effective for controlling chili anthracnose (Prihatiningsih et al., 2020c).

CONCLUSION

1. *B. subtilis* B315 is an isolate of *Bacillus* from potato rhizosphere that best suppresses *Xoo* in vitro with an antibiosis index of 1 which is in the strong category. The mechanism of inhibition is bacteriostatic antibiosis, which only

inhibits the growth of Xoo bacteria and is not lethal.

2. Prospects of developing *B. subtilis* B315 as a biopesticide formula capable of controlling Xoo.

ACKNOWLEDGMENT

Thank you to Rektor and Ippm Unsoed who provided funds to support this applied research activity.

REFERENCE

- Azizah, N. (2017). Uji ANTAGONIS *Corynebacterium* sp, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma* sp, DAN *Gliocladium* sp, TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Burkholderia glumae* PADA TANAMAN PADI SECARA *In-Vitro*. Skripsi. Program Studi Agroteknologi, Departemen Hama Dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. MAKASAR
- Balouiri, M., Sadiki, M., and Ibensouda S.K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2): 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Chun, W, & Vidaver, A.K. (2001). Gram-Positive Bacteria: *Bacillus*. In: Schaad N.W, Jones J.B, Chun W. (Eds.) *Plant Pathogenic Bacteria* 3rded. APS Press, St.Paul Minnesota
- Gordon, R.E., Haynes W.C., Pang C.H. (1973). The Genus *Bacillus*. Agriculture Research Service. United States Departement of Agriculture, washington DC
- Goto M. (1992). Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, New York.
- Halimahtussadiyah R, Natsir M, Kurniawati D, Utami SP. (2017). Isolation and identification of chitinolytic bacteria of Pohara river of South east Sulawesi and the optimization production of chitinase enzyme. Int.Conf. on Chemistry Chemical Process and Engineering (IC3PE) 2017 AIP Conf.Proc. 1823.020062-1-020062-7 <http://doi:10.1063/1.4978135>
- Kala, A., Soosairaj, S., Mathiyazhagan, S., & Raja, P. (2015). Isolation and Identification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* the causal agent of rice bacterial leaf blight and its activities against of six medicinal plants. *Asian J of Plant Sci and Res*.5(6): 80-83
- Lestari, P., Prihatiningsih, N., Djatmiko, H.A. (2017). Partial biochemical characterization of crude extract extracellular chitinase enzyme from *Bacillus subtilis* B 298. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering 172 (2017) 012041 doi 10.1088/1757-899X/172/1/012041
- Mew, T.W., Alvarez, A.M., Leach. J.E. and Swings. J. (1993) Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease*, 77, 5-12. <http://doi:10.1094/PD-77-0005>
- Naqvi, S.A.H., Perveen, R., ud Din Umer, U., Malik, O., ur Rehman, A., Wazeer, S. & Majid, T. (2014). Determination of antibacterial activity of various broad spectrum antibiotics against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, a cause of bacterial leaf blight of rice. *International Journal of Microbiology and Mycology* 2: 12-19. <http://www.innspub.net>
- Noer, Z., Hasanuddin, Lisnawati, Suryanto, D. (2018). Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from North Sumatera. IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science 122 012142

- Prihatiningsih, N. (2013). Aktivitas antibiosis *Bacillus* sp. B315 sebagai agens pengendali hayati *Ralstonia solanacearum* pada Kentang. *Disertasi*. Program Pasca sarjana Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
- Prihatiningsih, N. & Djatmiko, H.A. (2016). Enzim amilase sebagai komponen antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* Kentang. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika* 16: 10-16. [http://doi: 10.23960/j.hptt.12078-84](http://doi:10.23960/j.hptt.12078-84)
- Prihatiningsih, N. (2020). Paten IDS000003470. Formula Biobakterisida *Bacillus subtilis* B315 sebagai pengendali *Ralstonia solanacearum*. Diberi paten tanggal 23-12-2020
- Prihatiningsih, N., Arwiyanto, T., Hadisutrisno, B., Widada, J. (2020a). Characterization of *Bacillus* spp. from the rhizosphere of potato Granola variety as an antibacterial against *Ralstonia solanacearum*. *Biodiversitas* 21(9): 4199-4204 [http://doi: 10.13057/biodiv/d210934](http://doi:10.13057/biodiv/d210934)
- Prihatiningsih, N., Djatmiko, H.A., Lestari, P. (2020b). Screening of competent rice root endophytic bacteria to promote rice growth and bacterial leaf blight disease control. *J.HPT Tropika* 20(1): 78-84. [http:// doi: 10.23960/j.hptt.12078-84](http://doi:10.23960/j.hptt.12078-84)
- Prihatiningsih, N., Erminawati, Djatmiko, H.A. (2020c). Shelf-life of *Bacillus subtilis* B298 inclusion in biopesticide microencapsule formula and its efficacy in suppressing anthracnose disease on chili. *IOP Conf.Series: Earth and Environmental Science* 468 (2020) 012027 doi: 10.1088/1755-1315/468/1/012027
- Prihatiningsih, N., Asnani, A. & Djatmiko, H.A. (2021). Extracellular protease from *Bacillus subtilis* B315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili. *Biodiversitas* 22(3): 1291-1295. [http://doi: 10.13057/biodiv/d220327](http://doi:10.13057/biodiv/d220327)
- Radhakrishnan, R., Hashem, A., Abd_Aliah, E.F. (2017). *Bacillus*: A biological tool for crop improvement through bio-molecular changes in adverse environments. *Front Physiol* 8: 667. [http://doi: 10.3389/fphys.2017.00667](http://doi:10.3389/fphys.2017.00667)
- Shanti, M.L, Shenoy, V., Devi, G.L., Kumar, M., Premalatha, P., Kumar, G.N., Shahidhar, H.E., Zehr, U.B. & Freeman, W.H. (2010). Marker-assisted breeding for resistance to bacterial leaf blight in popular cultivar and parental lines of hybrid rice *J.Plant Pathol* 92 495-501
- Singh, D., Yadav, D.K., Chaudhary, G., Rana, V.S., Sharma, R.K. (2016). Potential of *Bacillus amyloliquefaciens* for biocontrol of bacterial wilt of tomato incited by *Ralstonia solanacearum*. *J.Plant Pathol. Microbiol.* 7: 327. [http://doi: 10.4172/2157-7471.1000327](http://doi:10.4172/2157-7471.1000327)
- Swamy, P., Panchbhai, A.N., Dodiya, P., V. Naik, V., Panchbhai, S., Zehr,U.B., Azhakanandam K., & Char, B.R. (2006). "Evaluation of bacterial blight resistance in rice lines carrying multiple resistance genes and Xa21 transgenic lines". *Current Science* 90: 818-824
- Yanti, Y., Hamid, H., Habazar, T. (2020). The ability of indigenous *Bacillus* spp. consortia to control the anthracnose disease (*Colletotrichum capsici*) and increase the growth of chili plants.

Biodiversitas 21(1): 179-186.
[http://doi 10.13057/biodiv/d210123](http://doi.10.13057/biodiv/d210123)



LPPM UNSOED

SERTIFIKAT

No. 663/UN23/PT.01.06/2021

Diberikan kepada:

Dr. Ir.Nur Prihatiningsih, M.S.

sebagai

PRESENTER

dengan judul presentasi

NANOPIOPESTISIDA Bacillus subtilis B315 SEBAGAI PENGENDALI Xanthomonas
in vitro

Pada Seminar Nasional “Pengembangan Sumber Daya Perdesaan dan Kearifan Lokal Bantul”
yang diselenggarakan oleh Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat
Universitas Jenderal Soedirman

Purwokerto, 12-14 Oktober 2021

Rector
Universitas Jenderal Soedirman



Prof. Dr. Ir. Suwanto, M.S.

Ketua LPPM



Prof. Dr. Rida Naufalin, S.P., M.Si.

Dr. Ra



“Tema: 1 (biodiversitas tropis dan prospeksi)”

**NANOBIOPESTISIDA *Bacillus subtilis* B315 SEBAGAI PENGENDALI
Xanthomonas oryzae pv. *oryzae* in vitro**

Nur Prihatiningsih¹, Dhadhang Wahyu Kurniawan² dan Heru Adi Djatmiko¹

¹Fakultas Pertanian, Universitas Jenderal Soedirman

²Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan, Universitas Jenderal Soedirman

ABSTRAK

Bacillus subtilis B315 merupakan bakteri antagonis rizosfer kentang yang telah teruji sebagai pengendali penyakit layu bakteri pada tanaman solanaceae. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi formula nanobiopestisida sebagai pengendali *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) in vitro dan mengetahui daya tahan (*shelf life*) *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi. Metode penelitian yang digunakan adalah eksperimen dengan menumbuhkan secara *dual culture* antara *B. subtilis* B315 formula nanobiopestisida dengan bakteri patogen *Xoo*. Perlakuannya adalah suspensi *B. subtilis* B315, nanosuspensi *B. subtilis* B315 diulang 15 kali. Variabel yang diamati adalah zona bening sebagai potensi hambatan, indeks antibiosis, mekanisme hambatan dan daya tahan *B. subtilis* B315 dalam nanosuspensi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa *B. subtilis* B315 baik dalam formula cair suspensi maupun nanosuspensi mampu menekan pertumbuhan *Xoo* dengan indeks antibiosis 1,44 pada *B. subtilis* B315 formula cair lebih kuat dibanding dengan nanosuspensi. Mekanisme penghambatan adalah bakteriostatik jadi hanya menghambat pertumbuhan *Xoo* dan tidak mematikannya. Evaluasi populasi *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi setelah 10 hari adalah $0,5.10^8$ CFU.mL⁻¹. *B. subtilis* B315 berpotensi sebagai pengendali *Xoo* dan formula nanobiopestisida dapat dikembangkan sebagai biopestisida untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri oleh *Xoo* di lahan.

Kata kunci: antibiosis, *B. subtilis* B315, bakteriostatik, nanosuspensi

ABSTRACT

Bacillus subtilis B315 is a potato rhizosphere antagonist that has been tested as control of bacterial wilt disease in Solanaceae plants. The purpose of this study was to evaluate the nanobiopesticide formula as a control for *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) in vitro and determine the *shelf life* of *B. subtilis* B315 in the nanosuspension formula. The research method used is an experiment by



growing in a dual culture between *B. subtilis* B315 nanobiopesticide formula and the pathogenic bacteria *Xoo*. The treatments were the suspension of *B. subtilis* B315, nanosuspension of *B. subtilis* B315 repeated 15 times. The variables observed were the clear zone as a potential inhibition, antibiosis index, inhibition mechanism, and the resistance of *B. subtilis* B315 in nanosuspension. The results showed that *B. subtilis* B315 in both suspension and nanosuspension liquid formulas was able to suppress *Xoo* growth with an antibiosis index of 1.44. *B. subtilis* B315 liquid formula was stronger than nanosuspension. The inhibition mechanism is bacteriostatic so it only inhibits the growth of *Xoo* and does not kill it. The population evaluation of *B. subtilis* B315 in the nanosuspension formula after 10 days was $0.5 \cdot 10^8$ CFU.mL⁻¹. *B. subtilis* B315 has the potential to control *Xoo* and the nanobiopesticide formula can be developed as a biopesticide to control bacterial leaf blight by *Xoo* in the field.

Keywords: antibiosis, *B. subtilis* B315, bacteriostatic, nanosuspension

PENDAHULUAN

Penyakit hawar daun bakteri padi disebabkan oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*). Penyakit ini dapat menurunkan hasil padi hingga lebih dari 50%, sehingga merupakan penyakit penting pada padi secara menyeluruh pada pertanaman padi (Naqvi et al., 2014). Kehilangan hasil padi karena penyakit hawar daun bakteri bervariasi dari 20% pada kondisi sedang dan > 50% pada kondisi yang kondusif untuk perkembangan penyakit seperti varietas, stadium pertumbuhan tanaman dan kondisi cuaca. Penyakit hawar daun bakteri padi ini pernah menjadi epidemi selama tahun 1998 di daerah Palakkad Kerala dan sejak saat itu diamati beberapa proporsi tiap tahunnya (Swamy et al., 2006; Kala et al., 2015). Beberapa taktik manajemen penyakit seperti penggunaan tanaman tahan yang berdasarkan gen tunggal (monogenik) ditanam, namun secara berangsur-angsur patah ketahanannya karena patogen membentuk strain baru.

X. oryzae pv. *oryzae* menyerang tanaman padi melalui stomata dan menunjukkan gejala berupa bercak memanjang dimulai dari ujung daun berwarna putih sampai abu-abu dengan tepi bergelombang tidak teratur, kering. Apabila terjadi pada masa vegetatif tanaman disebut dengan gejala kresek, dan pada masa generatif tanaman gejalanya disebut hawar atau blight (Shanti et al., 2010; Noer et al., 2018). Apabila patogen menyerang pada saat tanaman menjelang masak maka daun menjadi kuning pucat. Penyakit berkembang cepat apabila kondisi lingkungan menguntungkan untuk perkembangan *Xoo* (Mew et al., 1993). Pengendalian yang selama ini dilakukan belum dapat menuntaskan masalah serangan *Xoo* ini. Pemanfaatan agens hayati merupakan alternatif pengendalian yang aman dan ramah lingkungan antara lain pengendalian secara hayati dengan *B. subtilis*.

B. subtilis merupakan bakteri antagonis yang bersifat Gram positif, berbentuk batang, berukuran 7-8 x 2-3 µm, berflagelum, aerob, tidak berkapsul, mempunyai endospora yang berbentuk bulat telur sampai silinder, berukuran 0,6-0,9 x 1,0-1,5 µm, berdinding tipis. Spora terbentuk pada umumnya dalam waktu 24 jam (Gordon et al., 1973). Salah satu karakter yang kuat bahwa bakteri digolongkan ke dalam *Bacillus* adalah kemampuannya membentuk endospora pada kondisi ekstrim. *B. subtilis* B315 homolog dengan *B. subtilis* strain WIFD5 (Prihatiningsih et al. 2020a). *B. subtilis* isolat kentang ini telah dilakukan pengujian untuk pengendalian penyakit layu bakteri oleh *Ralstonia solanacearum* kentang, tomat, tembakau dan cabai. Efektivitas pengendalian bervariasi baik di rumah kaca maupun di lahan yang berbeda kondisinya. Hal ini menunjukkan keefektifannya tergantung kondisi cuaca, umur tanaman dan kepadatan populasi *B. subtilis*.

Mekanisme pengendalian patogen dengan *Bacillus* adalah antibiosis yaitu menghambat patogen dengan menghasilkan senyawa baik antibiotik, enzim maupun senyawa lain yang mudah menguap. Pengujian in vitro tentang mekanisme antibiosis ditandai dengan terbentuknya zona terang di sekitar koloni antagonis. Formula cair *B. subtilis* B315 sebagai pengendali *R. solanacearum* in vitro menunjukkan keefektifan dengan zona hambatan sebesar 18 mm dengan mekanisme penghambatan antibiosis yang ditunjukkan dengan enzim amilase, kitinase dan protease yang dihasilkan (Prihatiningsih dan Djatmiko, 2016; Lestari et al., 2017; Prihatiningsih et al. 2021).



Nanopartikel merupakan salah satu formulasi pestisida dengan teknologi nano disebut juga sebagai nanobiopestisida (Lade *et al.*, 2019) telah dikembangkan sejak abad 19, namun baru diperhatikan kembali sejak 1959. Teknologi nano dalam bidang pengelolaan penyakit tumbuhan dapat dimanfaatkan untuk diagnosis penyakit dan deteksi patogen, evaluasi penekanan terhadap patogen, dan mereformulasi pestisida. Aplikasi dan efektivitas pengendalian penyakit tanaman dengan menggunakan nanobiopestisida adalah aplikasi pada tanah, benih atau daun untuk melindungi tanaman dari invasi patogen (Alghuthaymi *et al.*, 2015). Nanoteknologi mempunyai kelebihan sebagai pestisida karena dapat mengurangi toksisitas, memperbaiki *shelf-life* (daya tahan dalam simpanan) dan kelarutan pestisida yang kurang bisa larut dalam air, dan berpengaruh positif terhadap tanaman dan lingkungan (Worral *et al.*, 2018).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi formula nanobiopestisida sebagai pengendali *X. oryzae* pv. *oryzae* (*Xoo*) *in vitro* dan mengetahui daya tahan (*shelf life*) *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Perlindungan Tanaman Fakultas Pertanian Unsoed, dan Laboratorium Farmasetika, Jurusan Farmasi Fakultas Ilmu-ilmu Kesehatan Unsoed Purwokerto, dari bulan April - Agustus 2021. Penelitian terdiri dari 2 tahap yaitu pembuatan nanobiopestisida *B. subtilis* B315 dan tahap 2 uji antagonisme nanobiopestisida terhadap *Xoo*.

Penyiapan bahan nanobiopestisida dan isolat *B. subtilis* B315 dan *Xoo*

Bahan yang digunakan adalah bakteri *Xoo*, bahan penyusun nanosuspensi adalah supernatan *B. subtilis* B315, medium pepton cair, medium YPGA, medium NB, larutan kitosan, larutan TPP (tripoliphosphat) 0,1%. Penyiapan suspensi *B. subtilis* B315 (perlakuan A) dengan cara menumbuhkan pada medium NB digojog 150 rpm pada orbital shaker, suhu ruang selama 2x24 jam begitu juga bakteri *Xoo*. Nanosuspensi (perlakuan B) disiapkan setelah suspensi *B. subtilis* B315 kemudian disentrifuse 3000 rpm selama 15 menit. Pembuatan nanosuspensi dengan cara supernatan *B. subtilis* B315 sebanyak 0,5 mL dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuse yang berisi larutan kitosan sebanyak 490 µL (2 g kitosan dilarutkan ke dalam asam asetat 1% hingga 200 mL) pH 4,0-5,0 kemudian digojog 20 detik dengan vortex. Campuran yang telah homogen ditambah 10 µL larutan TPP 0,1% dan dihomogenkan kembali dengan vortex selama 20 detik.

Uji antagonis bakteri *B. subtilis* terhadap *Xoo*

Isolat *B. subtilis* B315 diuji penghambatannya terhadap *Xoo* dengan metode difusi agar menggunakan kertas saring berdiameter lebih kurang 5 mm sesuai dengan metode Balouiri *et al.* (2016). Rancangan yang digunakan adalah Acak Lengkap dengan 2 perlakuan dan 15 ulangan. *Xoo* sebagai bakteri patogen yang diuji setelah ditumbuhkan pada medium NB digojog 150 rpm pada suhu ruang selama 2x24 jam dengan kepadatan *Xoo* 10^8 CFU.mL⁻¹ ditumbuhkan 1 ml secara pourplate pada medium YPGA. Kertas saring berdiameter 5 mm tersebut ditetesi dengan 10 µL suspensi bakteri *B. subtilis* B315 (perlakuan A), kemudian diletakkan pada medium YPGA tersebut pada 3 bagian. Dengan cara yang sama untuk perlakuan B, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Zona terang yang terbentuk di sekitar kertas saring menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan *Xoo*, diukur diameter zona. Penghambatan dihitung dari selisih diameter zona dikurangi diameter kertas saring.

Mekanisme penghambatan

Cara mengevaluasi mekanisme penghambatan *B. subtilis* B315 terhadap *Xoo*, dilakukan dengan cara mengambil bagian zona hambatan yang terbentuk kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi pepton cair 0,6% digojog dengan orbital shaker 150 rpm 24 jam pada suhu kamar. Kriteria mekanisme penghambatan menurut Goto (1992), apabila larutan menjadi keruh mencirikan masih adanya



pertumbuhan *Xoo*, sehingga *B. subtilis* B315 menunjukkan mekanisme penghambatan bakteriostatik. Namun apabila larutan jernih seperti kontrol (pepton cair tanpa bagian zona) menunjukkan mekanisme bakterisidal.

Indeks antibiosis

Indeks antibiosis diukur sesuai dengan indeks enzim menggunakan rumus mengukur indeks kitinolitik menurut Halimahtussadiyah *et al.* (2017) atau pelarut fosfat yang dihasilkan oleh bakteri antagonis, dengan mengukur diameter zona terang, dan diameter koloni atau dalam hal ini diameter kertas saring, menggunakan rumus menurut (Halimahtussadiyah *et al.*, 2017) sebagai berikut:

$$IA = \frac{(\text{diameter zona} - \text{diameter koloni antagonis})}{\text{diameter koloni antagonis}}$$

Menurut Stonier (1969 dalam Azizah, 2017), Penentuan kategori penghambatan dikelompokkan berdasarkan besar indeks penghambatan atau indeks antibiosis yaitu :

- Sangat Kuat (>2.0) dengan simbol (+++)
- Kuat (1.0 – 1.9) dengan simbol (++)
- Lemah (0.1 – 0.9) dengan simbol (+)
- Tidak memiliki kemampuan antagonistik (0.0) dengan simbol (-)

Daya tahan (*shelflife*) *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi

Daya tahan *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi dihitung dengan menggunakan metode tetes atau drop plate method (Herigstad *et al.*, 2001). Perhitungan populasi dilakukan pada 10, 25 dan 40 hari setelah formulasi.

Analisis data

Data yang diperoleh dianalisis dengan Tukey's test dan dilanjutkan dengan LSD taraf 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

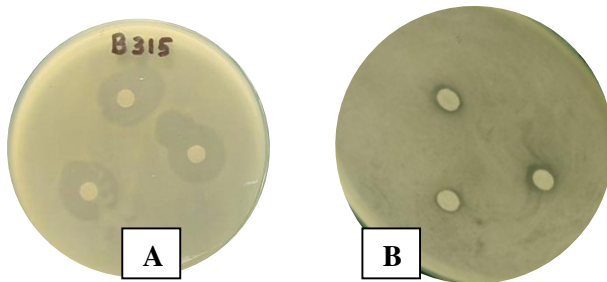
Penghambatan *B. subtilis* B315 terhadap *Xoo* in vitro

Penghambatan *B. subtilis* B315 terhadap *Xoo* in vitro ditunjukkan pada Tabel 1, Gambar 1. Perlakuan dengan formula cair suspensi *B. subtilis* B315 menunjukkan kemampuan menghambat yang lebih baik yaitu dengan indeks antibiosis sebesar 1,44 (++) yang tergolong kuat, sedangkan dengan nanosuspensi menunjukkan indeks antibiosisnya 0,41 (+) tergolong menghambat namun lemah. Zona hambat yang terbentuk oleh perlakuan *B. subtilis* B315 suspensi adalah 7,2 mm. Hal ini sependapat dengan Marcic *et al.* (2018) bahwa aplikasi *B. subtilis* dapat menekan *X. vesicatoria* pada tomat dengan zona hambat 5-9 mm.

Tabel 1. Penghambatan *Xoo* oleh *B. subtilis* B315 in vitro

Perlakuan <i>B. subtilis</i> B315	Zona hambat (mm)	Indeks antibiosis (%)	Mekanisme hambatan
Formula cair suspensi	7,2 a	1,44 (++)	bakteriostatik
Nanosuspensi	2,1 b	0,42 (+)	bakteriostatik

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata menurut LSD 5%



Gambar 1. Uji penghambatan *B. subtilis* B315 suspensi (A) dan nanosuspensi (B) terhadap *Xoo*

Mekanisme penghambatan

Mekanisme penghambatan *B. subtilis* B315 baik suspensi maupun nanosuspensi adalah bakteriostatik, meskipun yang nanosuspensi lebih jernih, namun zona hambatnya lebih kecil dibanding dengan formula suspensi dan keduanya menunjukkan mekanisme yang sama yaitu bakteriostatik (Gambar 2). Kejernihan zona dapat disebabkan oleh macam metabolit sekunder yang dihasilkan berupa enzim hidrolitik yang bervariasi seperti protease, selulase, lipase, aktivitas pemacu pertumbuhan (siderofor, IAA, pelarut fosfat, dan fiksasi nitrogen) (Azman *et al.*, 2017)



Gambar 2. Mekanisme penghambatan bakteriostatik
(A) Suspensi dan (B) Nanosuspensi *B. subtilis* B315

Kedua macam perlakuan *B. subtilis* B315 suspensi dan nanosuspensi menunjukkan mekanisme bakteriostatik, dan air peptonnya 0,6% keruh (Gambar 2). Hal ini menunjukkan bahwa pertumbuhan *Xoo* masih ada pada zona yang terbentuk, sehingga dikatakan hanya menghambat pertumbuhan *Xoo*. Bernatova *et al.* (2013) menyebutkan bahwa pengaruh antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri dapat dengan mekanisme bakteriostatik yaitu menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan bakterisidal dapat mematikan bakteri.

Daya tahan (*shelflife*) *B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi

Daya tahan *B. subtilis* B315 diamati berdasarkan perhitungan koloni yang terbentuk pada drop atau tetes pengenceran ke 4, 5, 6, 7 dan 8 sebagai berikut: pada pengenceran ke 5 dan 6 populasi koloni bakteri dapat terhitung, yang pengenceran ke 4 tidak terhitung karena terlalu padat dan pengenceran ke 7 dan 8 bakteri tidak tumbuh (Gambar 3).



Gambar 3. Metode drop untuk perhitungan populasi *B. subtilis* B315

Populasi awal *B. subtilis* B315 dalam suspensi $14,8 \times 10^8$ cfu/mL setelah dibuat nano suspensi masih bertahan pada kepadatan populasi $0,5 \times 10^8$ cfu/mL yang dihitung dengan metode drop pada suhu ruang. *Shelf life Bacillus* sp. menurun dalam formula apabila tidak ada bahan aditif setelah 240 hari (Rangeshwaran *et al.*, 2010). *B. subtilis* B298 mempunyai daya simpan sampai dengan 5 minggu dengan populasi yang sedikit menurun yaitu dari $12,79 \times 10^8$ menjadi $1,44 \times 10^8$ cfu/mL (Prihatiningsih *et al.*, 2020b).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat diambil kesimpulan bahwa

1. *B. subtilis* B315 formula nanosuspensi mampu menghambat Xoo dengan indeks antibiosis 0,42 (+)
2. Mekanisme antibiosis *B. subtilis* B315 adalah bakteriostatik, menghambat pertumbuhan Xoo tidak mematikannya.
3. *Shelf-life B. subtilis* B315 dalam formula nanosuspensi masih bertahan selama penyimpanan pada suhu ruang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada REKTOR Unsoed dan LPPM atas pembiayaan penelitian pada skim Penelitian Terapan.

DAFTAR PUSTAKA

Alghuthaymi, M.A., H. Almoammar., M.Rai, E. Said-Galiev E., & K.A. Abd-Elsalam. 2015. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. *Biotechnology & Biotechnological Equipment* 29(2): 221-236

Azizah, N. 2017. Uji ANTAGONIS *Corynebacterium* sp, *Bacillus amyloliquefaciens*, *Trichoderma* sp, DAN *Gliocladium* sp, TERHADAP BAKTERI PATOGEN *Burkholderia glumae* PADA



TANAMAN PADI SECARA In-Vitro. Skripsi. Program Studi Agroteknologi, Departemen Hama Dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. MAKASAR

Azman NA, K.Sijam, EM. Hata, R. Othman and HM. Saud. 2017. Screening of bacteria as antagonist against *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*, the causal agent of bacterial leaf blight of paddy and as plant growth promoter. *JEAI*. 33697

Balouiri M., M. Sadiki, and S.K. Ibensouda. 2016. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2): 71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>

Bernatová S, O Samek, Z Pilát, M Šerý, J Ježek, P Ják, M Šiler, V Krzyžánek, P.Zemánek, V Holá, M.Dvořáčková and F. Růžicka. 2013. Following the Mechanisms of Bacteriostatic versus Bactericidal Action Using Raman Spectroscopy. *Molecules* 18: 13188-13199; doi:10.3390/molecules181113188

Gordon, R.E., W.C Haynes, C.H Pang. 1973. The Genus *Bacillus*. Agriculture Research Service. United States Departement of Agriculture, washington DC

Goto M. 1992. Fundamentals of Bacterial Plant Pathology. Academic Press, New York.

Halimahtussadiyah R, M Natsir, D Kurniawati, SP Utami. 2017. Isolation and identification of chitinolytic bacteria of Pohara river of South east Sulawesi and the optimization production of chitinase enzyme. Int.Conf. on Chemistry Chemical Process and Engineering (IC3PE) 2017 *AIP Conf.Proc.* 1823.020062-1-020062-7 <http://doi: 10.1063/1.4978135>

Herigstad B, M. Hamilton, J. Heersink J. 2001. How to optimize the drop plate method for enumerating bacteria. *J Microbiol Meth*, 44(2): 121-129

Kala, A., S. Soosairaj, S. Mathiyazhagan & P. Raja. 2015. Isolation and Identification of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* the causal agent of rice bacterial leaf blight and its activities against of six medicinal plants. *Asian J of Plant Sci and Res.*5(6): 80-83

Lade, B.D., D.P Gogle, D.B Lade, G.M Moon, S.B Nandeshwar, S.D Kumbhare. 2019. Nanobiopesticide formulations: Application strategies today and future perspectives. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415829-6-00007-3>

Lestari, P., N. Prihatiningsih, HA Djatmiko. 2017. Partial biochemical characterization of crude extract extracellular chitinase enzyme from *Bacillus subtilis* B298. *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering* 172 (2017) 012041 doi 10.1088/1757-899X/172/1/012041

Marcic SM, V Todorovic, O.Stanojevic, T Beric, S Stankovic, B Todorovic and I Potonik. 2018. Antagonistic potential of *Bacillus* spp. isolates against bacterial pathogens of tomato and fungal pathogen of pepper. *Pestic. Phytomed. (Belgrade)*, 33(1): 9–18 DOI: <https://doi.org/10.2298/PIF1801009M>

Mew, T.W., A.M Alvarez, J.E. Leach.. and J.Swings. 1993. Focus on bacterial blight of rice. *Plant Disease*, 77, 5-12. <http://doi:10.1094/PD-77-0005>

Naqvi, S.A.H., R.Perveen, , U ud Din Umer, O Malik,, A. ur Rehman, S. Wazeer & T. Majid. 2014. Determination of antibacterial activity of various broad spectrum antibiotics against *Xanthomonas*



oryzae pv. *oryzae*, a cause of bacterial leaf blight of rice. *International Journal of Microbiology and Mycology* 2: 12-19. <http://www.innspub.net>

Noer, Z., Hasanuddin, Lisnawati, D. Suryanto. 2018. Pathotype profile of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* isolates from North Sumatera. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 122 012142

Prihatiningsih N and HA.Djarmiko. 2016. Enzim Amilase sebagai Komponen Antagonis *Bacillus subtilis* B315 terhadap *Ralstonia solanacearum* Kentang. *JHPT Tropika* 16 (1): 10 – 16

Prihatiningsih, N. T. Arwiyanto, B. Hadisutrisno, J. Widada. 2020a. Characterization of *Bacillus* spp. from the rhizosphere of potato Granola variety as an antibacterial against *Ralstonia solanacearum*. *Biodiversitas* 21 (9): 4199-4204 DOI: 10.13057/biodiv/d210934

Prihatiningsih, N., Erminawati, HA. Djarmiko. 2020b. Shelf-life of *Bacillus subtilis* B298 inclusion in biopesticide microcapsule formula and its efficacy in suppressing anthracnose disease on chili. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science* 468 (2020) 012027 doi: 10.1088/1755-1315/468/1/012027

Prihatiningsih, N., A. Asnani, & HA. Djarmiko. 2021. Extracellular protease from *Bacillus subtilis* B315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili. *Biodiversitas* 22(3): 1291-1295. <http://doi: 10.13057/biodiv/d220327>

Rangeshwaran R, NV. Vajid, B. Ramanujam, S. Sriram, TV. Bhaskaran and S. Kumar. 2010. Additives in powder based formulation for enhanced shelf life of *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus* sp. *Journal of Biological Control*, 24 (2): 158–163

Shanti, M.L, V Shenoy, G.L Devi, M. Kumar, P. Premalatha, GN. Kumar, H.E Shahidhar, UB. Zehr, & WH. Freeman. 2010. Marker-assisted breeding for resistance to bacterial leaf blight in popular cultivar and parental lines of hybrid rice *J.Plant Pathol* 92 495-501

Swamy, P., A.N Panchbhai, P.Dodiya, V. Naik, S. Panchbhai, U.B. Zehr, K.Azhakanandam & BR.Char. 2006. "Evaluation of bacterial blight resistance in rice lines carrying multiple resistance genes and Xa21 transgenic lines". *Current Science* 90: 818-824

Worrall, E.A., A. Hamid, KT. Mody, N. Mitter. and HR.Pappu 2018. Nanotechnology for Plant Disease Management. *Agronomy*. 8, 285: 24 p

SURAT PERNYATAAN TANGGUNG JAWAB BELANJA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Dr.Ir. NUR PRIHATININGSIH, M.S

Alamat : Perumahan Sapphire Residence Blok Ruby C 9 Purwokerto 53182

Berdasarkan Surat Keputusan Nomor 1310/UN23/HK.02/2021 dan Perjanjian/Kontrak Nomor T/531/UN.23.18/PT.01.03/2021 mendapatkan Anggaran Penelitian Terapan berjudul: Formulasi Nanoteknologi Biopestisida *Bacillus subtilis* Rizosfer Kentang sebagai Antibakteri dan Antijamur Patogen Padi, sebesar 45.250.000.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Biaya kegiatan penelitian di bawah ini meliputi:

No	Uraian	Jumlah
01	Bahan ATK, Bahan habis pakai (bahan kimia) dan barang persediaan (mudah aus, pecah: cawan Petri, Tabung Reaksi, Erlenmeyer dll)	16.750.000
02	Perjalanan Perjalanan saat persiapan penelitian, perlakuan dan saat pengamatan	11.000.000
03	Pelaksanaan Lainnya Administrasi, Seminar dan laporan	7.000.000
04	Pelaporan, Luaran Wajib dan Luaran Tambahan Publikasi pada Jurnal, Paten, Buku TTG	10.500.000
	Jumlah	45.250.000

2. Jumlah angka tersebut di atas, benar-benar dikeluarkan untuk kegiatan penelitian dimaksud.

3. Bersedia menyimpan dengan baik seluruh bukti pengeluaran belanja yang telah dilaksanakan.

4. Bersedia untuk dilakukan pemeriksaan terhadap bukti-bukti pengeluaran oleh aparat pengawas fungsional pemerintah.

5. Apabila di kemudian hari, pernyataan yang saya buat ini mengakibatkan kerugian negara dimaksud sesuai dengan peraturan perundang-undangan.

Demikian surat pernyataan ini dibuat dengan sebenarnya.

Purwokerto, 15-11-2021

Ketua



(Dr.Ir.Nur Prihatiningsih, M.S.)

NIP/NIK 196105141986012001

Logbook/Catatan Harian

No.	Tanggal	Uraian	Prosentase
1.	29-03-2021	Koordinasi penelitian (FGD 1): penjadwalan dan pembagian tugas tanggungjawab tahapan penelitian	10 %
2.	01-04-2021	Penyiapan bahan dan alat penelitian (pesanan bahan kimia, sterilisasi alat)	15 %
3.	05-04-2021	Pembuatan medium NA, NB, YPGA, Pepton cair, water agar, dan Refresh bakteri <i>B. subtilis</i> , B46, B209, B211, B298, dan B315 dan Xoo, jamur <i>Rhizoctonia solani</i>	30 %
4.	10-04-2021	Pengujian penghambatan 5 isolat <i>B. subtilis</i> terhadap Xoo (<i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>) dan <i>Rhizoctonia solani</i>	40 %
5.	17-04-2021	Pengamatan penghambatan <i>B. subtilis</i> 5 isolat terhadap Xoo dan <i>R. solani</i> dengan pengukuran zona bening dan diameter zona R1 dan R2	45 %
6.	20-04-2021	Pengamatan mekanisme penghambatan bakteriostatik atau bakterisidal dan malformasi dari morfologi hifa <i>R. solani</i> secara mikroskopik	50 %
7.	27-04-2021	Penyiapan pembuatan formula nanopartikel biopestisida dari <i>B. subtilis</i> terpilih dari uji sebelumnya yaitu B315	55 %
8.	04-06-2021	Proses pembuatan nanopartikel biopestisida, sampai terbentuk nanosuspensi biopestisida	60 %
9.	01-08-2021	Pengujian dan pengamatan nanosuspensi terhadap Xoo	65 %
10.	10-08-2021	Penyusunan Laporan Kemajuan, Luaran : Artikel ke jurnal Nasional terakreditasi, dan draf Paten sederhana	70 %
11.	28-09-2021	Pelatihan Drafting Paten di LPPM Unsoed, membuat deskripsi paten sederhana berjudul Komposisi dan pembuatan nanobiopestisida <i>Bacillus subtilis</i> B315	80 %
12.	12-10-2021	Seminar Nasional di LPPM Unsoed dengan judul artikel: NANO BIOPESTISIDA <i>Bacillus subtilis</i> B315 SEBAGAI PENGENDALI <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> in vitro	90 %
13.	04-11-2021	Membuat leaflet biopestisida NANO-BAS, Biopestisida nanosuspensi berbasis <i>B. subtilis</i> B315	95 %
14.	11-11-2021	Menyusun laporan akhir, SPTB dan mengupload pada sinelitabmas	100 %

Tgl	22-09-2021
Kepada yth : Nur Prihatiningsih	

Faktur No: 05 - 3 - 2021

Banyaknya	Nama Barang	Harga@Rp	Jumlah (Rp)
1 pack	Tip mikropipet biru dan boks	460.000	460.000
1 ps	Mikropipet 100-1000 µl	3.000.000	3.000.000
2 box	Test tube 16x150	600.000	1.200.000
4 lusin	Cawan Petri	360.000	1.440.000
1 lusin	Erlenmeyer 250 ml	360.000	360.000
	Jumlah		6.100.000

CV. GENERAL LABORA
YOGYAKARTA

Aji

No. 09/9/2021

Telah terima dari

Katna Peneliti

Uang sejumlah

Satu juta rupiah

Untuk pembayaran

Tenaga Administrasi Penelitian selama 8 bulan

Purwokerto, 2 September 2021

Yang Menerima.

[Signature]
Hana Pratiwi

Rp. 1.000.000

No. 09/9/2021

Telah terima dari Ketua Peneliti

Uang sejumlah Enam juta rupiah

Untuk pembayaran Penyusunan Deskripsi paten dan biaya pendaftaran paten

Purwokerto, 28 Sept 2021
Yang menerima

Rp. 6.000.000,-

Nur Prihatiningsih

No. 10/10/2021

Telah terima dari Ketua Peneliti

Uang sejumlah Dua juta rupiah

Untuk pembayaran Penyiapan Artikel & Seminar Nasional

Purwokerto, 10 Oktober 2021
Yang menerima

Rp. 2.000.000,-

Nur Prihatiningsih

No. 11/11/2021

Telah terima dari Ketua Peneliti

Uang sejumlah Empat juta lima ratus ribu rupiah

Untuk pembayaran Biaya publikasi pada jurnal nasional terakreditasi

Purwokerto, 9 Nov 2021
Yang menerima

Rp. 4.500.000,-

Nur Prihatiningsih

No. 12/11/2021

Telah terima dari Ketua Peneliti Nur Prihatiningsih

Uang sejumlah Tiga juta rupiah

Untuk pembayaran Pembuatan video, foto dan leaflet biopestisida Nano-bas

Purwokerto, 10 Nov 2021
Yang menerima

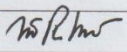
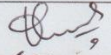
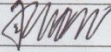
Rp. 3.000.000,-

Dhahang W. Kurniawan

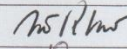
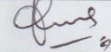
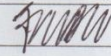
Telah Terima dari ketua peneliti Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S.

Biaya Perjalanan : 06 / 5 / 2021

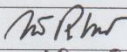
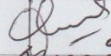
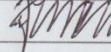
A. Perjalanan persiapan penelitian

Nama	Satuan Kegiatan (HOK)	Satuan biaya (Rp)	Biaya (Rp)	Tanda tangan
Nur Prihatiningsih	8	100.000	800.000	
Dhadhang Wahyu Kurniawan	6	100.000	600.000	
Heru Adi Djatmiko	6	100.000	600.000	
		Jumlah	2.000.000	

B. Perjalanan saat perlakuan penelitian

Nama	Satuan Kegiatan (HOK)	Satuan biaya (Rp)	Biaya (Rp)	Tanda tangan
Nur Prihatiningsih	10	100.000	1.000.000	
Dhadhang Wahyu Kurniawan	10	100.000	1.000.000	
Heru Adi Djatmiko	10	100.000	1.000.000	
		Jumlah	3.000.000	

C. Perjalanan saat pengamatan penelitian

Nama	Satuan Kegiatan (HOK)	Satuan biaya (Rp)	Biaya (Rp)	Tanda tangan
Nur Prihatiningsih	20	100.000	2.000.000	
Dhadhang Wahyu Kurniawan	20	100.000	2.000.000	
Heru Adi Djatmiko	20	100.000	2.000.000	
		Jumlah	6.000.000	

Perhitungan:

Pesanan yang telah diambil dalam
jangka waktu 1 bulan plusiding

DP

TOTAL.....

COPY CENTRE

Aras-Jaya, Nakara Indonesia Indah Mall

Rp. 500.000,-

Sisa Rp.