

PROTEKSI ISI LAPORAN AKHIR PENELITIAN

Dilarang menyalin, menyimpan, memperbanyak sebagian atau seluruh isi laporan ini dalam bentuk apapun kecuali oleh peneliti dan pengelola administrasi penelitian

LAPORAN AKHIR PENELITIAN MULTI TAHUN

ID Proposal: eacc5fab-9715-4428-a2d9-626ab782dc56
Laporan Akhir Penelitian: tahun ke-1 dari 3 tahun

1. IDENTITAS PENELITIAN

A. JUDUL PENELITIAN

KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT AKAR PADI LAHAN SUBOPTIMAL SEBAGAI PENGINDUKSI KETAHANAN TANAMAN TERHADAP PENYAKIT HAWAR DAUN BAKTERI

B. BIDANG, TEMA, TOPIK, DAN RUMPUN BIDANG ILMU

Bidang Fokus RIRN / Bidang Unggulan Perguruan Tinggi	Tema	Topik (jika ada)	Rumpun Bidang Ilmu
Pangan	Teknologi Budidaya dan Pemanfaatan Lahan Sub-Optimal	Pertanian lahan sub-optimal basah	Ilmu Hama dan Penyakit Tanaman

C. KATEGORI, SKEMA, SBK, TARGET TKT DAN LAMA PENELITIAN

Kategori (Kompetitif Nasional/ Desentralisasi/ Penugasan)	Skema Penelitian	Strata (Dasar/ Terapan/ Pengembangan)	SBK (Dasar, Terapan, Pengembangan)	Target Akhir TKT	Lama Penelitian (Tahun)
Penelitian Kompetitif Nasional	Penelitian Terapan	SBK Riset Terapan	SBK Riset Terapan	5	3

2. IDENTITAS PENGUSUL

Nama, Peran	Perguruan Tinggi/ Institusi	Program Studi/ Bagian	Bidang Tugas	ID Sinta	H-Index
NUR PRIHATININGSIH Ketua Pengusul	Universitas Jenderal Soedirman	Agronomi		6067817	0
Dr. Ir HERU ADI DJATMIKO M.P Anggota Pengusul 1	Universitas Jenderal Soedirman	Agroteknologi	Bertanggungjawab pada pengujian bakteri endofit di laboratorium untuk antagonisme konsorsium bakteri endofit terhadap bakteri patogen <i>Xanthomonas oryzae</i> pv. <i>oryzae</i>	6142781	0

			dan pengujian lapang terhadap pertumbuhan dan hasil padi		
PUJI LESTARI S.Si, M.Si Anggota Pengusul 2	Universitas Jenderal Soedirman	Kimia	Bertanggung jawab pada pengujian karakter fisiologi bakteri endofit meliputi kemampuan bakteri endofit dan konsorsiumnya sebagai penghasil siderofor, pelarut fosfat, penghasil N, pengaruh terhadap ketahanan tanaman meliputi ketahanan biokimiawi yaitu aktivitas enzim peroksidase, PAL, senyawa fenol total dan ketahanan struktural tanaman	6145742	0

3. MITRA KERJASAMA PENELITIAN (JIKA ADA)

Pelaksanaan penelitian dapat melibatkan mitra kerjasama, yaitu mitra kerjasama dalam melaksanakan penelitian, mitra sebagai calon pengguna hasil penelitian, atau mitra investor

Mitra	Nama Mitra
Mitra Calon Pengguna	Emy Triyanti, STP

4. LUARAN DAN TARGET CAPAIAN

Luaran Wajib

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Dokumen pendaftaran paten proses	Terbit nomor pendaftaran paten	

Luaran Tambahan

Tahun Luaran	Jenis Luaran	Status target capaian (<i>accepted, published, terdaftar atau granted, atau status lainnya</i>)	Keterangan (<i>url dan nama jurnal, penerbit, url paten, keterangan sejenis lainnya</i>)
1	Artikel di Jurnal Nasional terakreditasi peringkat 1-3	Accepted	Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan tropika

5. ANGGARAN

Rencana anggaran biaya penelitian mengacu pada PMK yang berlaku dengan besaran minimum dan maksimum sebagaimana diatur pada buku Panduan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Edisi 12.

Total RAB 3 Tahun Rp. 598,890,000

Tahun 1 Total Rp. 192,870,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Honorarium narasumber	OJ	1	1,500,000	1,500,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	10	300,000	3,000,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	18	1,000,000	18,000,000
Bahan	ATK	Paket	10	451,000	4,510,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	15	1,374,000	20,610,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	25	1,586,000	39,650,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	1	1,000,000	1,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Publikasi artikel di Jurnal Nasional	Paket	1	4,900,000	4,900,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Luaran KI (paten, hak cipta dll)	Paket	1	7,500,000	7,500,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya Luaran Iptek lainnya (purwa rupa, TTG dll)	Paket	1	13,000,000	13,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya pembuatan dokumen uji produk	Paket	1	7,000,000	7,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	3	3,000,000	9,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	3	4,000,000	12,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	4	1,000,000	4,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	50	80,000	4,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	90	100,000	9,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	90	80,000	7,200,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	4	750,000	3,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	7	1,000,000	7,000,000
Sewa Peralatan	Obyek penelitian	Unit	16	500,000	8,000,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	90	100,000	9,000,000

Tahun 2 Total Rp. 204,380,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Honorarium narasumber	OJ	1	1,500,000	1,500,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	16	300,000	4,800,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	50	288,000	14,400,000
Bahan	ATK	Paket	10	300,000	3,000,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	24	841,875	20,205,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	25	2,251,000	56,275,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Publikasi artikel di Jurnal Internasional	Paket	1	15,000,000	15,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya pembuatan dokumen uji produk	Paket	1	4,800,000	4,800,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	3	3,000,000	9,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	3	4,000,000	12,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	2	750,000	1,500,000
Pengumpulan Data	HR Sekretariat/Administrasi Peneliti	OB	2	1,000,000	2,000,000
Pengumpulan Data	HR Petugas Survei	OH/OR	3	1,000,000	3,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	3	1,000,000	3,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	10	1,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	120	100,000	12,000,000
Sewa Peralatan	Kebun Percobaan	Unit	1	3,500,000	3,500,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	4	1,250,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Obyek penelitian	Unit	8	450,000	3,600,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	9	1,200,000	10,800,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	120	75,000	9,000,000

Tahun 3 Total Rp. 201,640,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Analisis Data	Honorarium narasumber	OJ	2	1,500,000	3,000,000
Analisis Data	HR Pengolah Data	P (penelitian)	16	300,000	4,800,000
Analisis Data	Biaya analisis sampel	Unit	60	250,000	15,000,000
Bahan	ATK	Paket	10	320,000	3,200,000
Bahan	Bahan Penelitian (Habis Pakai)	Unit	20	1,663,500	33,270,000
Bahan	Barang Persediaan	Unit	25	1,163,600	29,090,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan	Publikasi artikel di	Paket	1	15,000,000	15,000,000

Jenis Pembelanjaan	Item	Satuan	Vol.	Biaya Satuan	Total
Luaran Tambahan	Jurnal Internasional				
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya pembuatan dokumen uji produk	Paket	1	8,780,000	8,780,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar nasional	Paket	3	3,000,000	9,000,000
Pelaporan, Luaran Wajib, dan Luaran Tambahan	Biaya seminar internasional	Paket	3	4,000,000	12,000,000
Pengumpulan Data	FGD persiapan penelitian	Paket	5	700,000	3,500,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Peneliti	OJ	10	1,000,000	10,000,000
Pengumpulan Data	Transport	OK (kali)	120	75,000	9,000,000
Pengumpulan Data	HR Pembantu Lapangan	OH	120	100,000	12,000,000
Sewa Peralatan	Kebun Percobaan	Unit	1	3,500,000	3,500,000
Sewa Peralatan	Ruang penunjang penelitian	Unit	4	1,250,000	5,000,000
Sewa Peralatan	Peralatan penelitian	Unit	10	1,200,000	12,000,000
Sewa Peralatan	Obyek penelitian	Unit	10	450,000	4,500,000
Sewa Peralatan	Transport penelitian	OK (kali)	120	75,000	9,000,000

6. HASIL PENELITIAN

A. RINGKASAN: Tuliskan secara ringkas latar belakang penelitian, tujuan dan tahapan metode penelitian, luaran yang ditargetkan, serta uraian TKT penelitian.

Bakteri endofit mempunyai prospek yang baik dalam bidang pertanian karena berasosiasi dengan tanaman, tidak menimbulkan gejala penyakit yang merugikan tanaman, bahkan mempunyai efek dalam kesehatan tanaman. Pengendalian penyakit tanaman dengan bakteri endofit merupakan alternatif yang mempunyai keuntungan karena ramah lingkungan dan berpengaruh positif pada tanaman. Pengaruh positif pada tanaman padi dapat diamati dari jumlah anakan dan bobot segar dan kering tanaman serta bobot gabah. Penyakit hawar daun bakteri (bacterial leaf blight) oleh *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo) merupakan penyakit yang menyebabkan kerusakan pada daun dan kehilangan hasil mencapai 74%. Aplikasi bakteri endofit dapat memperbaiki sifat lahan sub-optimal karena mampu sebagai pelarut fosfat, penghasil siderofor (pengkkelat Fe^{3+}) dan penambat nitrogen serta menghasilkan zat pengatur tumbuh, sehingga meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Tujuan penelitian ini adalah: 1). Menguji kompatibilitas konsorsium bakteri endofit akar padi, potensinya sebagai antagonis terhadap Xoo, sebagai pemacu pertumbuhan dan hasil padi, 2) Memilih konsorsium bakteri endofit akar padi terbaik sebagai antagonis Xoo, 3). Mengetahui aktivitas konsorsium bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman 4). Mengetahui aktivitas konsorsium bakteri endofit sebagai penginduksi ketahanan tanaman 5). Menyusun formula konsorsium bakteri endofit baik padat maupun cair, 6). Mengevaluasi aplikasi formula konsorsium bakteri endofit sebagai penginduksi ketahanan tanaman dan memilih formula terbaik untuk disosialisasikan.

Penelitian ini dilaksanakan selama tiga tahun dengan metode eksperimental. Pada tahun 1 dilakukan pengujian kompatibilitas konsorsium bakteri endofit, selanjutnya diuji potensinya sebagai bakteri antagonis terhadap patogen hawar daun bakteri sampai

mendapatkan konsorsium terpilih. Pada tahun 2 dilakukan pengujian potensi konsorsium bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan tanaman padi pada lahan sub-optimal dengan pengujian karakter fisiologi sebagai penghasil IAA, HCN, siderofor, pelarut fosfat, dan penambat nitrogen. Pada tahun ke 2 ini juga diuji aktivitas antimikroba, sebagai penginduksi ketahanan tanaman melalui uji penghasil enzim hidrolitik seperti kitinase, peroksidase, fenol total, asam salisilat, asam jasmonat dan silikat. Pada tahun 3 dilakukan penyusunan formula konsorsium bakteri endofit, aplikasi dari formula terpilih sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan penginduksi ketahanan tanaman padi. Luaran yang ditargetkan pada penelitian ini adalah luaran wajib berupa prototipe formula biopestisida dari konsorsium bakteri endofit dan pendaftaran paten sederhana. Luaran tambahan berupa artikel pada jurnal nasional terakreditasi, jurnal internasional, dan Teknologi Tepat Guna. Penelitian ini mencapai TKT 4 - 5 pada tahun ke 1 sampai ke 3 tahap penelitian. Konsorsium bakteri endofit diuji di laboratorium sampai mendapatkan prototipe yang terintegrasi dengan sistem teknologi aplikasi dan evaluasi sehingga layak secara teknis dan bermanfaat sebagai agens biokontrol yang mampu mengatasi penyakit hawar daun bakteri namun menguntungkan bagi tanaman karena menghasilkan metabolit sekunder yang mampu memacu pertumbuhan tanaman dan menginduksi ketahanan tanaman. Tanaman padi dapat ditanam secara luas, melalui teknologi pemanfaatan konsorsium bakteri endofit, diharapkan dapat tumbuh baik pada lahan sub-optimal, karena bakteri endofit mampu sebagai biokontrol, menginduksi ketahanan tanaman dan meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman. Hasil penelitian diharapkan dapat memberi kontribusi pada ilmu pengetahuan dalam peningkatan produksi padi melalui perbaikan tanaman dengan aplikasi konsorsium bakteri endofit. Selain itu hasil penelitian memberikan sumbangsih pada pertanian berkelanjutan melalui berkurangnya ketergantungan penggunaan pestisida kimia sintetik dalam mengendalikan penyakit tanaman, sehingga mendukung keamanan pangan.

B. KATA KUNCI: Tuliskan maksimal 5 kata kunci.

bakteri endofit, hawar daun bakteri, ketahanan, konsorsium, padi

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian dapat berupa data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Pengisian poin C sampai dengan poin H mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan singkatas mungkin. Dilarang menghapus/modifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

C. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

Hasil Penelitian Tahun ke 1

Uji Kompatibilitas Bakteri Endofit untuk menyeleksi sebagai penyusun konsorsium

Tabel 1. Seleksi 12 isolat bakteri endofit akar padi lahan marginal sebagai konsorsium

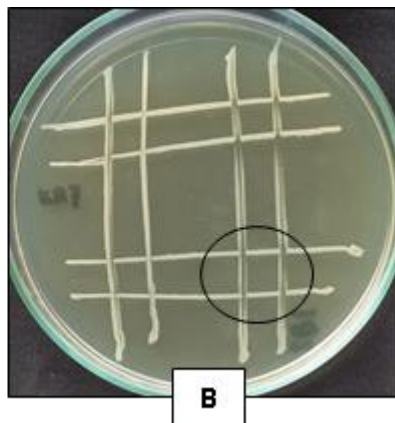
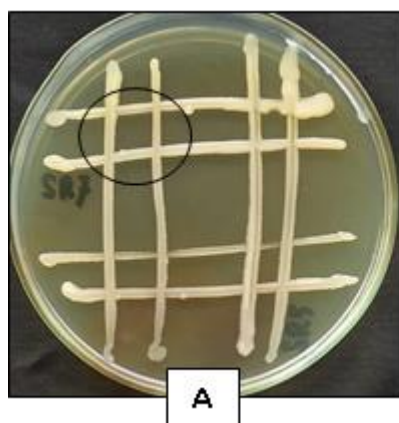
Nomor Isolat bakteri endofit akar padi	Asal isolat	Kompatibilitas antar isolat	Reaksi Pertumbuhan koloni
A1	Petanahan Kebumen, Jateng	+	Sedikit lisis
A4	Petanahan Kebumen, Jateng	+	Sedikit lisis
A5	Petanahan Kebumen, Jateng	+++	Tahan, tumbuh kuat
A6	Petanahan Kebumen, Jateng	++	Tahan, tumbuh
SR5	Patikraja Banyumas, Jateng	+	Sedikit lisis
SR7	Patikraja Banyumas, Jateng	+	Sedikit lisis
SM1	Somagede Banyumas, Jateng	+	Sedikit lisis
SB1	Sumbang Banyumas, Jateng	+	Sedikit lisis
SB3	Sumbang Banyumas, Jateng	+++	Tahan, tumbuh kuat
KR4	Karangwangkal, Banyumas Jateng	+++	Tahan, tumbuh kuat
KR5	Karangwangkal, Banyumas Jateng	+	Sedikit lisis
KR7	Karangwangkal, Banyumas Jateng	+++	Tahan, tumbuh kuat

Keterangan: +: sedikit lisis (suatu ketika pernah kuat, namun sebagian besar terhadap isolat lain kalah dan terjadi lisis=ruptur);

++: tahan tumbuh (terhadap isolat lain pernah sedikit lisis, namun sebagian besar tumbuh kuat);

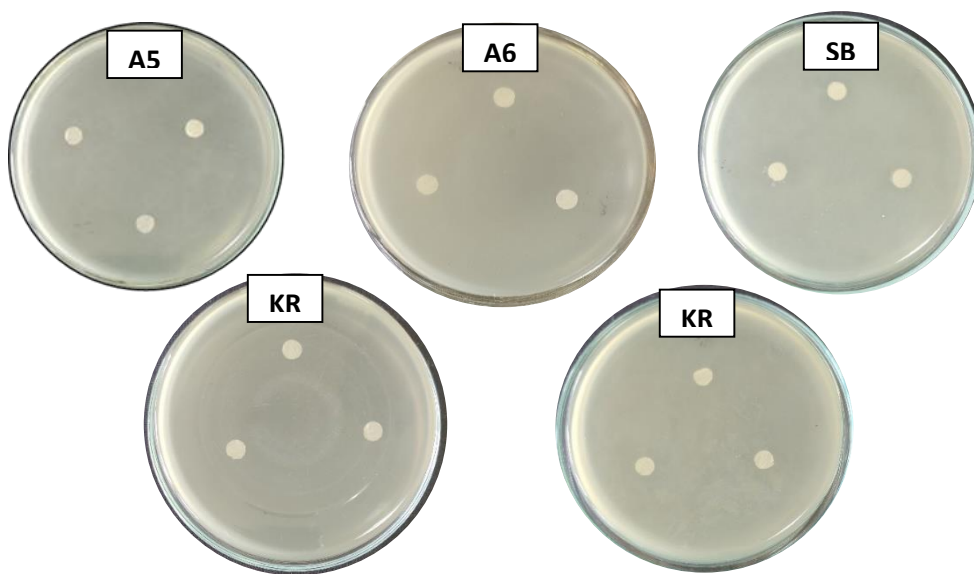
+++ : tahan tumbuh dan kuat (pertumbuhan koloni selalu kuat terhadap isolat lainnya)

Uji kompatibilitas bakteri endofit dilakukan dengan metode yang dikemukakan oleh (Molina-Romero, 2017) dengan cara menumbuhkan secara bersama dua bakteri endofit digoreskan menumpang satu sama lainnya. Apabila setelah inkubasi 24 jam goresan dua bakteri menunjukkan pertumbuhan goresan yang utuh tidak terjadi lisis atau ruptur maka dikatakan bakteri tersebut sesuai atau kompatibel. Hal sebaliknya apabila pada pertemuan dua goresan dari dua macam bakteri endofit terjadi lisis maka dikatakan bakteri endofit tersebut tidak sesuai atau tidak kompatibel (Gambar 1).



Gambar 1. Pertumbuhan dua isolat yang kompatibel (A) dan salah satu isolat yang tidak kompatibel (B) dengan cara goresan (streaking method)

Setelah tahap 1 terpilih 5 isolat sebagai penyusun konsorsium yaitu A5, A6, KR4, KR7 dan SB3, kemudian dilakukan uji masing-masing isolat tunggal terhadap konsorsium, maka dibuatlah konsorsium bakteri endofit dengan cara menumbuhkan pada medium NB dari masing-masing 1 Ose bakteri endofit tersebut, digojog pada orbital shaker 150 rpm 2x24 jam pada suhu kamar. Masing-masing bakteri endofit secara tunggal juga ditumbuhkan dengan cara yang sama pada NB. Konsorsium bakteri endofit yang telah terbentuk suspensi ditumbuhkan pada medium YPGA secara pourplate (1 mL suspensi dalam 10 mL medium pada cawan Petri, kemudian suspensi masing masing bakteri endofit secara tunggal digunakan untuk meneteskan 10 μ L pada kertas saring berdiameter 5 mm, dan diletakkan pada tiga tempat di medium YPGA yang sudah berpourplate dengan bakteri endofit konsorsium. Indikator bahwa bakteri endofit tunggal kompatibel sebagai konsorsium adalah tidak terbentuknya zona terang di sekitar kertas saring (Gambar 2)



Gambar 2. Uji kompatibilitas isolat tunggal bakteri endofit terhadap konsorsium bakteri endofit

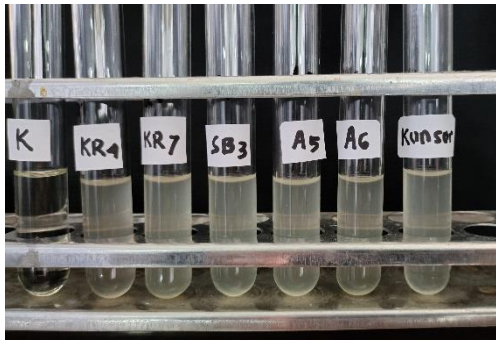
Potensi konsorsium sebagai antagonis Xoo

Uji potensi bakteri endofit secara tunggal dan konsorsium dilakukan dengan metode paper disk (Ting et al., 2009; Suryadi et al. 2013; Balouiri et al., 2016). Hasil uji penghambatan ditunjukkan pada Tabel 2.

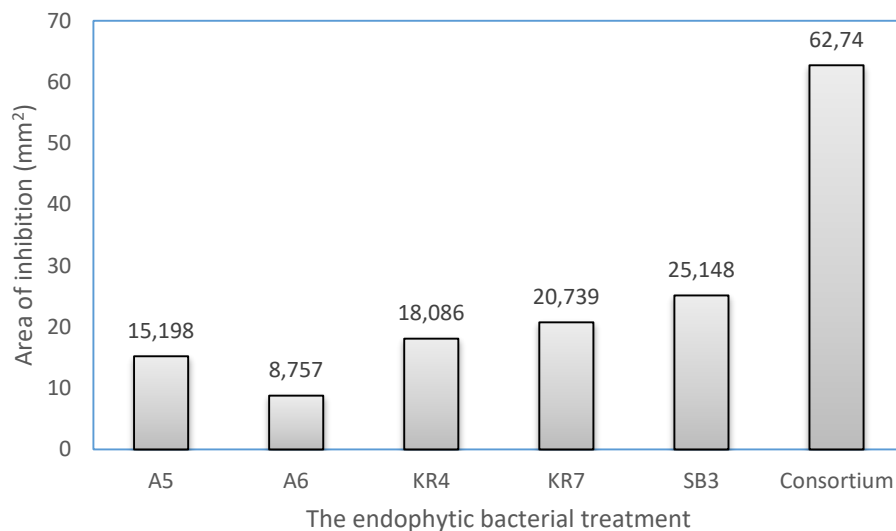
Tabel 2. Uji penghambatan bakteri endofit tunggal dan konsorsium terhadap pertumbuhan Xoo

Perlakuan bakteri endofit	Zona hambatan (mm)	Mekanisme antibiosis
A5	2.20 ± 0.20 bc	bakteriostatik
A6	1.67 ± 0.12 c	bakteriostatik
KR4	2.40 ± 0.20 bc	bakteriostatik
KR7	2.57 ± 0.15 bc	bakteriostatik
SB3	2.83 ± 0.15 b	bakteriostatik
Konsorsium	4.47 ± 0.15 a	bakteriostatik

Ket: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.



Gambar 3. Mekanisme bakteriostatik 5 isolat BE dan konsorsium BE



Gambar 4. Luas penghambatan antara bakteri endofit dengan Xoo

Pengujian kelima isolat bakteri endofit tunggal dan konsorsium diuji terhadap Xoo in vitro menurut metode Kelima isolat bakteri endofit dan konsorsium mampu menekan pertumbuhan Xoo dengan mekanisme semuanya adalah bakteriostatik, hanya menghambat pertumbuhan namun tidak mematikan Xoo yang ditunjukkan pada medium pepton cair adalah keruh (Gambar 3). Konsorsium bakteri endofit menunjukkan penghambatan tertinggi yaitu 4,47 mm yang berbeda nyata dengan perlakuan lainnya dan luas penghambatannya terluas yaitu 62,74 mm² (Tabel 2 dan Gambar 4).

D. STATUS LUARAN: Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi isian jenis luaran yang dijanjikan serta mengunggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Simlitabmas.

Luaran wajib:

Paten berjudul: KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR DAUN BAKTERI PADI

Status ketercapaian luaran wajib Paten adalah 85% sudah pelatihan drafting paten, sudah mendapat nomor pendaftaran paten yaitu No P00202108038 tanggal 27 September 2021, tinggal menunggu tahap mediasi paten sampai terbit sertifikat paten.

PRODUK Biopestisida “BAEN KO” formula cair berbasis Konsorsium Bakteri endofit akar padi

Status ketercapaian luaran wajib produk adalah 70% sudah membuat konsorsium bakteri endofit formula cair BAEN-KO dan diaplikasikan pada pengendalian *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in vitro, pada tahun ke dua nanti akan diaplikasikan pada tanaman padi untuk mengendalikan penyakit hawar daun bakteri dan peningkatan pertumbuhan tanaman.



Gambar 5. Produk (A) dan leaflet (B) Biopestisida **BAEN KO**

Luaran tambahan:

1. Seminar Internasional ICMA 7-8 September 2021:
Judul: Bioprospecting endophytic bacteria consortium from rice suboptimal lands for biological control of rice bacterial leaf blight pathogens
2. Jurnal Nasional Terakreditasi Sinta 2 yaitu Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika, submit tanggal 9 November 2021
Judul: Antagonistic feature displayed by endophytic bacteria consortium for control rice pathogens

E. **PERAN MITRA:** Tuliskan realisasi kerjasama dan kontribusi Mitra baik *in-kind* maupun *in-cash* (untuk Penelitian Terapan, Penelitian Pengembangan, PTUPT, PPUPT serta KRUPT). Bukti pendukung realisasi kerjasama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerjasama dengan Mitra diunggah melalui Simlitabmas.

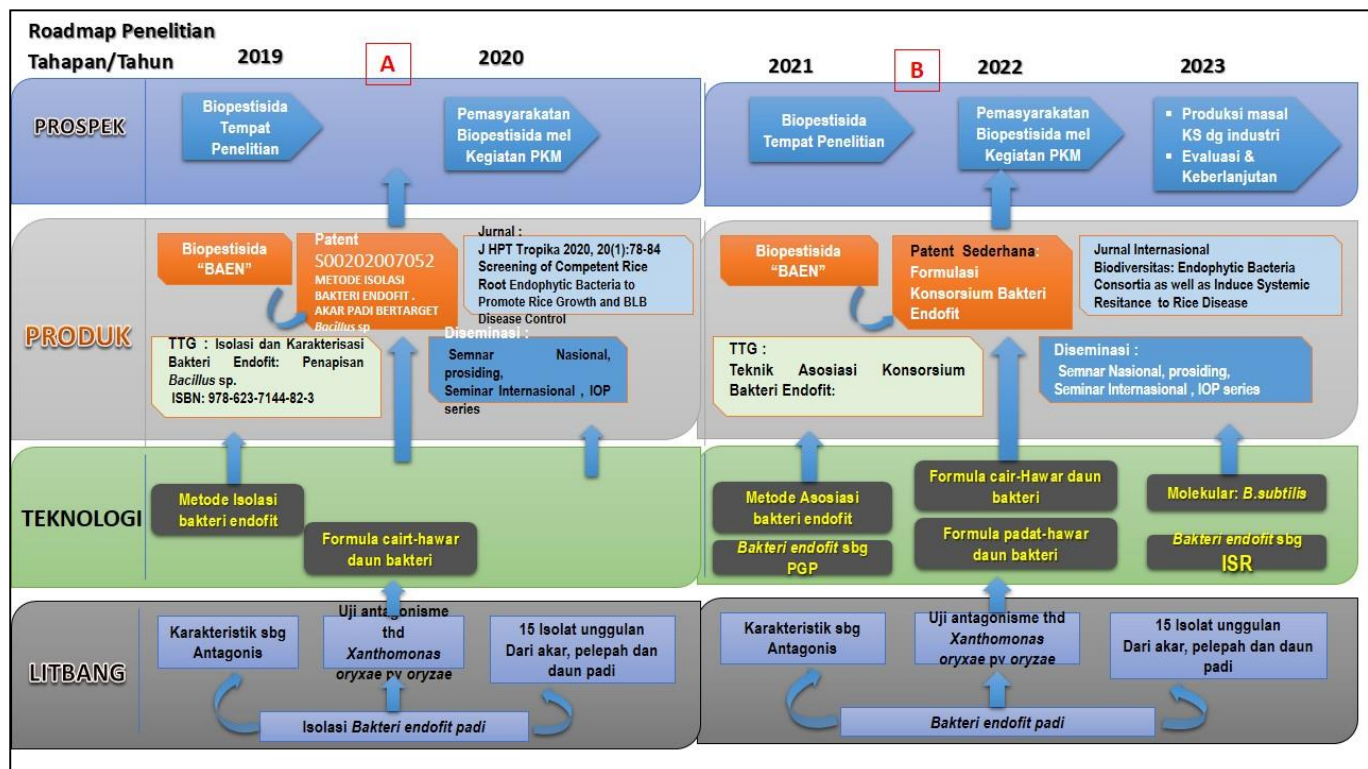
Peran Mitra adalah sebagai penyedia sarana, secara in kind menyediakan lahan marginal dengan tanaman padi yang dapat diambil sampel tanamannya untuk diisolasi bakteri endofitnya, dan bakteri patogen *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan jamur patogen hawar pelepah *Rhizoctonia solani*. Selanjutnya pada tahun ke dua peran mitra sebagai penyedia lahan untuk uji lapangan bakteri endofit, dan siap menerima teknologi biopestisida “BAEN KO” sebagai agens biokontrol penyakit hawar daun bakteri dan hawar pelepah padi.

F. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN: Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau dijanjikan.

Hambatan yang dihadapi dalam melakukan penelitian ini adalah keterbatasan peralatan laboratorium terutama spektrofotometer yang mengantri dalam penggunaannya. Solusi mengatasinya yaitu merencanakan kegiatan secara rinci sehingga jadwal penggunaan alat dapat pas dengan waktu peralatan dapat dipakai. Kendala lain yaitu masa PPKM covid 19 yang agak membatasi kegiatan.

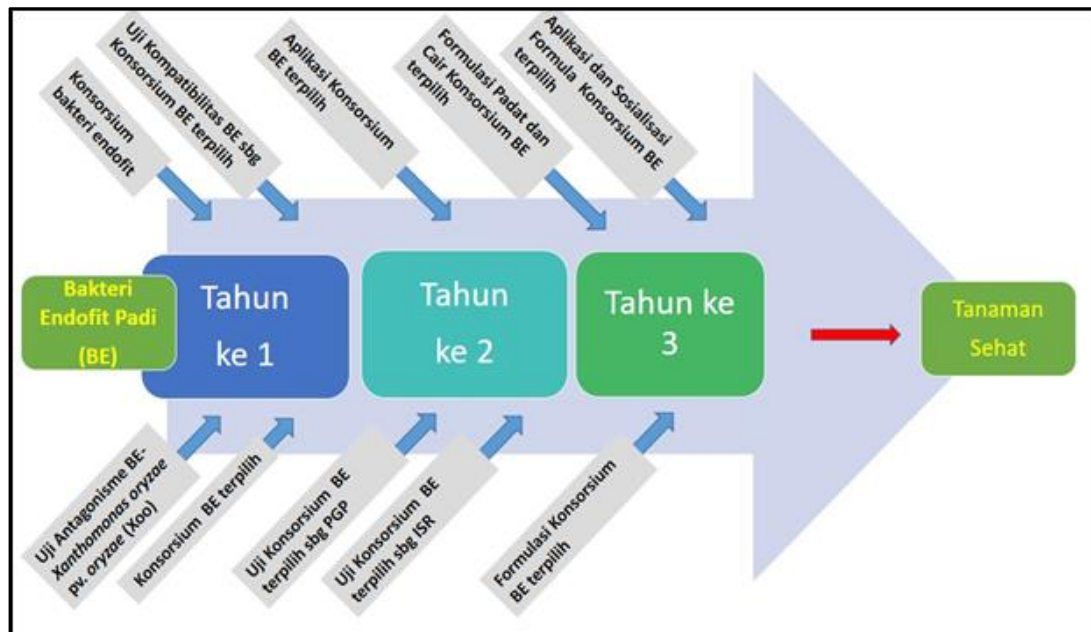
G. RENCANA TAHAPAN SELANJUTNYA: Tuliskan dan uraikan rencana penelitian di tahun berikutnya berdasarkan indikator luaran yang telah dicapai, rencana realisasi luaran wajib yang dijanjikan dan tambahan (jika ada) di tahun berikutnya serta *roadmap* penelitian keseluruhan. Pada bagian ini diperbolehkan untuk melengkapi penjelasan dari setiap tahapan dalam metoda yang akan direncanakan termasuk jadwal berkaitan dengan strategi untuk mencapai luaran seperti yang telah dijanjikan dalam proposal. Jika diperlukan, penjelasan dapat juga dilengkapi dengan gambar, tabel, diagram, serta pustaka yang relevan. Jika laporan kemajuan merupakan laporan pelaksanaan tahun terakhir, pada bagian ini dapat dituliskan rencana penyelesaian target yang belum tercapai.

Roadmap keseluruhan



Gambar 6. Roadmap penelitian bakteri endofit akar padi sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan (telah dilaksanakan) (A) dan konsorsium bakteri endofit sebagai agens biokontrol, pemacu pertumbuhan dan penginduksi ketahanan tanaman (akan dilaksanakan) (B).

Tahapan penelitian yang akan dilaksanakan sampai dengan tahun 2023 sebagai berikut,



Gambar 7. Tahapan penelitian selama 3 tahun

Hasil penelitian tahun ke 1 tentang penyusunan bakteri endofit dalam konsorsium, meliputi uji kompatibilitas antar isolat dan antar tiap isolat dengan konsorsium. Hasilnya terpilih 5 isolat yaitu A5, A6, KR4, KR7 dan SB3. Selanjutnya menguji tiap isolat penyusun konsorsium (isolat tunggal) dan konsorsium terhadap penekanan pertumbuhan *X. oryzae* pv. *oryzae* menurut metode paper disk (Ting et al., 2009; Suryadi et al. 2013; Balouiri et al., 2016), dengan hasil bakteri endofit konsorsium menunjukkan daya hambat tertinggi dibanding dengan isolat tunggal. Prospek konsorsium bakteri endofit terpilih tahun ke 1 ini akan diaplikasikan pada tanaman padi dan dievaluasi potensinya sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri dan pemacu pertumbuhan tanaman.

H. DAFTAR PUSTAKA: Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

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>

Molina-Romero D, Baez A, QuinteroHernández V, Castañeda-Lucio M, Fuentes-Ramírez LE, Bustillos-Cristales MdR, Osvaldo Rodríguez-Andrade, Yolanda Elizabeth Morales-García YE, Antonio Munive A, Muñoz-Rojas J. (2017). Compatible bacterial mixture, tolerant to desiccation, improves maize plant growth. *PloS ONE* 12(11): e0187913. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187913>

Suryadi Y, Susilowati D.N., Priyatno T.P., Samudra I.M., Kadir T.S and Mubarik N.R. .2013. Prospect of Using Bacterial Bio-formulation to Suppress Bacterial Leaf Blight of Rice: A Case Study in Cianjur, West Java. *PENELITIAN PERTANIAN TANAMAN PANGAN* 32 (2): 83-90

Ting, A.S.Y., M.T. Fang, and C.S. Tee. 2009. Assesment of the effect of formulative materials on the viability and efficacy of *Serratia marcescens* a biocontrol agent against *Fusarium oxysporum* f.sp *cubense* race 4. *Amer. J. Agric. & Biol. Sci.* 4(4): 283-288.

Dokumen pendukung luaran Wajib #1

Luaran dijanjikan: Paten produk

Target: Terbit nomor pendaftaran paten sederhana

Dicapai: Draft

Dokumen wajib diunggah:

1. Dokumen Draft

Dokumen sudah diunggah:

1. Dokumen Draft

Dokumen belum diunggah:

- Sudah lengkap

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

Data Permohonan (Application)			
Nomor Permohonan Number of Application	: P00202108038	Tanggal Permohonan Date of Submission	: 27-Sep-2021
Jenis Permohonan Type of Application	: PATEN	Jumlah Klaim Total Claim	: 2
		Jumlah halaman Total page	: 12
Judul Title	: KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR DAUN BAKTERI PADI		
Abstrak Abstract	: KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR DAUN BAKTERI PADI Invensi berkaitan dengan teknik mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali patogen hawar daun bakteri padi. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bakteri endofit yang kompatibel agar menjadi suatu konsorsium yang sesuai untuk pengendalian patogen hawar daun bakteri pada padi. Pengujian konsorsium bakteri endofit dilakukan dengan dua cara yaitu goresan silang pada medium NA, dan menggunakan paperdisk yang ditetesi suspensi bakteri endofit 10 µl ditumbuhkan pada medium NA yang secara pour plate telah mengandung bakteri endofit lain. Isolat yang kompatibel tidak ada hambatan dalam pertumbuhan secara bersama ditunjukkan tidak terbentuknya kerusakan atau lisis goresannya dan tidak adanya zona terang. Potensi konsorsium bakteri endofit dalam mengendalikan X. oryzae pv. oryzae ditunjukkan dengan terbentuknya zona terang antara 15-20 mm di sekitar paperdisk yang telah ditetesi suspensi konsorsium bakteri endofit.		

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, Kode Pos 53122, Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, 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
Dr. Ir. Heru Adi Djatmiko, M.P	Indonesia	Fakultas Pertanian Unsoed	heru.djatismiko@unsoed.ac.id 081327044292
Dr. Puji Lestari, S.Si., M.Si	Indonesia	Fakultas MIPA Unsoed	puji.lestari0611@unsoed.ac.id 085726241295

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, Kode Pos 53122, Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, Provinsi Jawa Tengah.	sentra.hki@unsoed.ac.id 0281625739

Lampiran (Attachment)
KLAIM
ABSTRAK
GAMBAR TEKNIK
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, 27-Sep-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

Nomor Permohonan Paten : P00202108038

Tanggal Penerimaan Permohonan Paten : 27-SEP-21

Judul Invensi : KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR DAUN BAKTERI PADI

Nama Pemohon	Alamat Pemohon	Nomor Telepon	Email	Wargane gara
Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM). UNSOED	Jalan Dr. Soeparno, Grendeng, Kode Pos 53122, Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, 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, Kode Pos 53122, Purwokerto Utara, Kabupaten Banyumas, Provinsi Jawa Tengah.
Nomor Telepon Konsultan	: 0281625739
Email Konsultan	: sentra.hki@unsoed.ac.id

Detail Pembayaran

Kode Billing : 820210927287791

Tanggal Pembayaran : 27/09/2021

Jumlah Yang Dibayarkan : Rp 3,000,000

Jakarta, 27 September 2021
Pemohon / Kuasa
Applicant / Representative



Tanda Tangan / Signature
Nama Lengkap / Fullname

Deskripsi

KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR DAUN BAKTERI PADI

5

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan teknik konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali patogen hawar daun bakteri pada padi. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bakteri endofit yang kompatibel agar menjadi suatu konsorsium yang sesuai untuk pengendalian patogen hawar daun bakteri pada tanaman padi *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.

15 **Latar Belakang Invensi**

Penyakit hawar daun pada padi merupakan kendala dalam budidaya padi. Penyakit ini disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. Kerugian hasil padi karena penyakit hawar daun bakteri dapat mencapai kisaran 60-80%, tergantung kondisi lingkungan dan varietas. Upaya pengendalian yang masih diterapkan sampai saat ini adalah penggunaan bakterisida sintetik. Namun aplikasi yang secara terus menerus dapat menimbulkan efek negatif, antara lain ikut mematikan bakteri berguna, dan meninggalkan residu yang merugikan terhadap lingkungan. Selain itu dapat menimbulkan ketahanan terhadap patogen sehingga menimbulkan strain atau ras baru yang dapat lebih virulen. Oleh karena itu perlu dicari upaya pengendalian yang berwawasan lingkungan, aman dan efektif serta dapat berpengaruh positif pada pertumbuhan dan hasil tanaman. Bakteri endofit diketahui mampu sebagai agens pengendali hayati pada tanaman. Bakteri endofit mempunyai keunggulan antara lain mampu bekerja lebih baik

dibanding bakteri antagonis lainnya karena berinteraksi dengan tanaman, masuk ke dalam tanaman sehingga lebih tahan terhadap perubahan kondisi lingkungan, berkontak langsung dengan patogen dan dapat memacu pertumbuhan tanaman. Apabila

5 bakteri endofit merupakan genus *Bacillus* sp. maka bakteri endofit tersebut mempunyai keunggulan antara lain mudah didapat, dipelihara, mampu menghasilkan antibiotika, enzim dan senyawa semacam zat pengatur tumbuh auksin, sehingga berpengaruh positif pada tanaman dan lingkungan.

10 Biobakterisida berbahan aktif *Bacillus* sp. di luar negeri sudah ada, namun berbeda spesies atau strainnya, dan digunakan pada tanaman serta penyakit yang berbeda pula, sehingga belum tentu efektif digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman di Indonesia. Penelitian sebelumnya adalah

15 aplikasi bakteri endofit secara tunggal, dari 10 bakteri endofit yang diuji, isolat Sumbang terbaik menekan penyakit hawar daun bakteri oleh *X.oryzae* pv.*oryzae* sebesar 64.16% and 49.14% di rumah kaca dan di lahan. Oleh karena itu pada invensi ini disusun suatu konsorsium bakteri endofit agar

20 daya kerjanya lebih efektif. Berdasarkan paten no US 9.862.955 B2 tahun 2018, dinyatakan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari rizosfer padi dapat dimanfaatkan sebagai biopestisida, selain itu juga dapat berperan dalam menginduksi ketahanan dan berpengaruh meningkatkan

25 pertumbuhan tanaman, diikuti dengan produksi masal dan formulasi. Invensi baru tentang bakteri endofit adalah disebut sebagai *Bacillus oryzicola* yang DNA nya lebih dari 70% berhubungan erat dengan lebih dari satu *Bacillus oryzicola*.

Bakteri endofit dalam formulasi yang memenuhi syarat sebagai pengendali penyakit tanaman adalah yang siap pakai, aman terhadap lingkungan, efektif untuk mengendalikan penyakit tanaman dan berpengaruh positif pada tanaman.

5 Bakteri endofit secara tunggal telah banyak dimanfaatkan dalam pengendalian penyakit tanaman, namun secara konsorsium dengan menggabungkan beberapa bakteri endofit potensial belum banyak dimanfaatkan. Diharapkan dengan tersedianya biobakterisida berbahan aktif konsorsium bakteri endofit

10 strain asli Indonesia akan menurunkan intensitas penyakit hawar daun bakteri yang selama ini menjadi kendala dalam budidaya tanaman padi. Selain itu konsorsium bakteri endofit ini mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman yang selanjutnya berdampak pada masyarakat secara luas karena akan

15 meningkatkan pendapatan petani. Invensi sebelumnya yaitu informasi paten mengenai bakteri endofit asal rizosfer padi *Bacillus oryzicola* sebagai pengendali penyakit pada padi yang disebabkan oleh *Burkholderia glumae*, *X. oryzae* pv. *oryzae* dan jamur *Gibberella fujikuroi* yang menyerang daun dan akar padi.

20 Hal ini tercantum dengan nomor paten US 9.862.955 B2. Namun belum diungkapkan spesifikasi formulanya. Strain bakteri endofit yang menunjukkan aktivitas sebagai antijamur adalah nomor paten US 20030135898 A1 dan nomor WO 20160044954 A1 tentang bakteri endofit yang mampu menghambat pertumbuhan

25 jamur patogen pada rerumputan seperti penyebab dollar spot atau brown spot. Bakteri endofit yang dimaksud teridentifikasi sebagai *Bacillus subtilis* dan *Paenibacillus polymyxa*. Perlakuannya pada benih tanaman, penyemprotan, dan inokulasi buatan seperti pada bakteri pemfiksasi nitrogen

30 selama pertumbuhan tanaman. Paten sebelumnya yang sudah

diperoleh adalah nomor IDP000037663 tentang formulasi biopestisida berbasis *Bacillus* sp. B298 sebagai pengendali penyakit layu bakteri kentang, dan nomor IDP000041724 tentang formula cair biobakterisida berbasis *Bacillus* sp. B46 dan *Streptomyces* sp. S4. Paten yang telah didaftarkan tentang metode isolasi bakteri endofit akar padi bertarget *Bacillus* sp. dengan no pendaftaran paten S00202007052. Pada deskripsi ini diutamakan tentang konsorsium bakteri endofit dan potensinya terhadap patogen hawar daun bakteri padi yaitu *X. oryzae* pv. *oryzae*.

Tujuan dari invensi ini adalah mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai biobakterisida yang mampu mengendalikan patogen hawar daun bakteri padi.

15 **Uraian Singkat Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan teknik konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali penyakit hawar daun bakteri pada padi. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bakteri endofit yang kompatibel agar menjadi suatu konsorsium yang sesuai untuk pengendalian penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi.

Tujuan dari invensi ini adalah teknik mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai biobakterisida yang mampu mengendalikan patogen hawar daun bakteri padi yang disebabkan oleh *X. oryzae* pv. *oryzae*.

Invensi tentang konsorsium bakteri endofit akan bermanfaat dalam pengendalian penyakit tanaman khususnya penyakit hawar daun bakteri padi dibandingkan dengan perlakuan bakteri endofit secara tunggal dan agensia hayati yang lainnya.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1 teknik pengujian kompatibilitas bakteri endofit untuk disusun sebagai konsorsium bakteri endofit (A),
 5 dan pengujian konsorsium bakteri endofit dalam mengendalikan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in vitro (B).

Uraian Lengkap Invensi

Invensi berkaitan dengan teknik konsorsium bakteri
 10 endofit sebagai pengendali patogen hawar daun bakteri pada padi. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bakteri endofit yang kompatibel agar menjadi suatu konsorsium yang sesuai untuk pengendalian patogen hawar daun bakteri pada tanaman padi. Senyawa aktif yang dihasilkan
 15 dari ekstrak konsorsium bakteri endofit merupakan hasil ekstraksi metabolit sekunder yang mempunyai peran penting dalam pengendalian patogen tanaman. Berdasarkan sifat ini maka konsorsium bakteri endofit merupakan komposisi bakteri antagonis yang kompatibel untuk mengendalikan penyakit hawar
 20 daun pada tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *X.oryzae* pv. *oryzae*. Mekanisme antagonistik dari konsorsium bakteri endofit adalah antibiosis, yang secara *in vitro* ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di sekitar paperdisk yang telah ditetesi 10 µl suspensi konsorsium bakteri endofit dan
 25 secara dual culture ditumbuhkan bersama dengan *X.oryzae* pv.*oryzae*. Metabolit sekunder yang dihasilkan oleh konsorsium bakteri endofit sebagai aktivitas antibiosis dalam pengendalian patogen tanaman dapat berupa enzim, protein, antibiotik, alkaloid dan siderofor. Biobakterisida yang
 30 berbahan aktif bakteri endofit akar padi telah ada dengan

spesies dan strain yang berbeda misalnya *Bacillus oryzicola*, *B. pumilus*, *B. subtilis*, dan *B. amyloliquefaciens* serta *B. methylootropicus*. Isolat *B. methylootropicus* ditemukan di Korea tahun 2010 mampu sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

5 Bakteri endofit dapat diaplikasikan secara tunggal maupun konsorsium. Kompatibilitas beberapa bakteri endofit akar padi yaitu dari 12 isolat, setelah diuji yang kompatibel ada 5 isolat yaitu A5, A6, KR4, KR7 dan SB3. Kelima isolat ini dibuat konsorsium untuk pengendalian bakteri patogen *X.oryzae*
 10 pv. *oryzae* yang merupakan penyebab penyakit hawar daun bakteri padi. Penyakit ini cukup merugikan tanaman karena daun yang bergejala menunjukkan hawar atau blight pada tepi daun dan kering, sehingga mengurangi area fotosintesis, akibatnya tanaman terganggu produksinya.

15 Pemanfaatan bakteri endofit dalam konsorsium ini menguntungkan, dan dampak yang dirasakan bagi petani adalah tersedianya biopestisida yang mampu bersaing dengan pestisida sintetik. Namun lebih ramah lingkungan karena aman bagi lingkungan dan berpengaruh positif pada tanaman bahkan dapat
 20 memacu pertumbuhan dan hasil tanaman, serta meningkatkan resistensi tanaman terhadap patogen. Berdasarkan uraian di atas, dapat disampaikan bahwa invensi ini merupakan teknik mendapatkan konsorsium bakteri endofit akar padi yang bermanfaat sebagai biobakterisida untuk mengendalikan bakteri
 25 patogen tanaman dan menguntungkan bagi tanaman.

Bakteri endofit dieksplor dari akar padi sehat di lahan marginal dengan tahapan sebagai berikut: 10 g akar padi sehat disterilisasi permukaan dengan alkohol 70% dan dibilas dengan air steril tiga kali, kemudian ditiriskan. Akar dipotong
 30 dengan gunting steril kemudian ditumbuhkan pada medium NA

(*Nutrient agar*) yang sudah diplating satu hari sebelumnya. Sebagai kontrol dan memastikan yang tumbuh adalah bakteri endofit, maka air pada bilasan ke 3 ditumbuhkan dengan cara meneteskan pada medium. Apabila tidak ada mikroba yang tumbuh berarti sterilisasi permukaan berhasil dan yang tumbuh dari potongan akar adalah benar-benar bakteri endofit. Koloni yang tumbuh direisolasi pada medium NA baru sebagai isolat murni dan sebagai stock culture. Cara yang ke dua yaitu dengan maserasi akar padi sehat setelah sterilisasi permukaan kemudian diencerkan, pada pengenceran pertama dioven pada suhu 80°C selama 20 menit untuk target mendapatkan isolat *Bacillus* sp., kemudian dilakukan seri pengenceran. Pada pengenceran ke 3,4 dan 5 ditumbuhkan secara spread plate pada medium NA.

Invensi ini memiliki nilai orisinal karena dimulai dari mengeksplor bakteri endofit akar padi sehat dari lahan marginal. Hasil isolat murni kemudian dilakukan uji fisiologi dan biokimia serta uji kesesuaian sebagai konsorsium bakteri endofit. Selanjutnya diuji kemampuannya sebagai biobakterisida untuk menghambat pertumbuhan *X. oryzae* pv. *oryzae*. Kompatibilitas beberapa bakteri endofit akar padi yaitu dari 12 isolat yang berasal dari akar padi sehat, setelah diuji yang kompatibel ada 5 isolat yaitu A5, A6, KR4, KR7 dan SB3. Kelima isolat ini dibuat konsorsium untuk pengendalian bakteri patogen *X.oryzae* pv. *oryzae* yang merupakan penyebab penyakit hawar daun bakteri padi. Pengujian kompatibilitas bakteri endofit dilakukan dengan dua cara yaitu goresan silang dua bakteri endofit dalam satu medium biakan NA di cawan Petri. Kompatibilitas ditunjukkan dengan tumbuhnya goresan bakteri sebagai koloni bakteri

endofit. Cara ke dua adalah dengan menumbuhkan salah satu bakteri endofit pada medium NA secara *pour plate* kemudian suspensi bakteri endofit yang lain ditetaskan 10 µl pada paper disk dan diletakkan di atas medium berbakteri endofit tersebut. Kompatibilitas bakteri endofit ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona terang di sekitar paperdisk.

Tujuan invensi adalah teknik mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai biobakterisida yang mampu mengendalikan patogen hawar daun bakteri padi.

Proses pengujian kompatibilitas bakteri endofit sebagai konsorsium yang mampu mengendalikan *X.oryzae* pv. *oryzae* adalah sebagai berikut

1. Masing-masing isolat bakteri endofit murni ditumbuhkan bersama dengan isolat bakteri endofit lainnya secara goresan silang dan dengan cara diffusi menggunakan paper disk.
2. Isolat bakteri endofit yang kompatibel dengan yang lain pada no 1 dan sesuai untuk konsorsium ditunjukkan dengan goresan yang utuh tidak terjadi lisis atau ruptur. Cara uji kompatibilitas yang ke dua dengan paperdisk yang ditetesi 10 µl suspensi isolat bakteri endofit yang satu, sedangkan bakteri endofit yang lain ditumbuhkan secara *pour plate* pada medium biakan, dan sebaliknya. Isolat yang kompatibel ditunjukkan oleh tidak terbentuknya zona bening
3. Selanjutnya terpilih isolat bakteri endofit yang sesuai untuk konsorsium, dan diuji kemampuan menghambatnya terhadap *X.oryzae* pv. *oryzae*
4. Efektivitas penghambatan konsorsium bakteri endofit terhadap bakteri patogen pada no 3 ditunjukkan oleh adanya

zona terang di sekitar paperdisk antara 15-20 mm. Semakin lebar zona terang semakin efektif sebagai biobakterisida.

5

10

15

20

25

30

Klaim

1. Konsorsium bakteri endofit dibuat dengan menggabungkan lima isolat hasil seleksi berdasarkan kompatibilitas pertumbuhannya pada medium NA, yaitu isolat A5, A6, KR4, KR7 dan SB3
2. Potensi konsorsium bakteri endofit efektif mengendalikan *X. oryzae* pv. *oryzae* in vitro ditunjukkan dengan terbentuknya zona terang antara 15-20 mm

10

15

20

25

30

Abstrak**KONSORSIUM BAKTERI ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI PATOGEN HAWAR
DAUN BAKTERI PADI**

5

Invensi berkaitan dengan teknik mendapatkan konsorsium bakteri endofit sebagai pengendali patogen hawar daun bakteri padi. Secara khusus invensi ini berkaitan dengan cara menggabungkan bakteri endofit yang kompatibel agar menjadi
10 suatu konsorsium yang sesuai untuk pengendalian patogen hawar daun bakteri pada padi. Pengujian konsorsium bakteri endofit dilakukan dengan dua cara yaitu goresan silang pada medium NA, dan menggunakan *paperdisk* yang ditetesi suspensi bakteri endofit 10 µl ditumbuhkan pada medium NA yang secara *pour*
15 *plate* telah mengandung bakteri endofit lain. Isolat yang kompatibel tidak ada hambatan dalam pertumbuhan secara bersama ditunjukkan tidak terbentuknya kerusakan atau lisis goresannya dan tidak adanya zona terang. Potensi konsorsium bakteri endofit dalam mengendalikan *X. oryzae* pv. *oryzae*
20 ditunjukkan dengan terbentuknya zona terang antara 15-20 mm di sekitar *paperdisk* yang telah ditetesi suspensi konsorsium bakteri endofit.

25

30

5

10

15

20

25

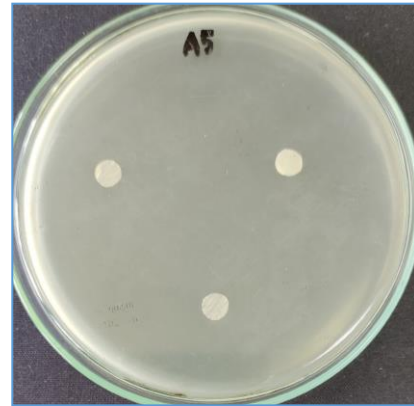
30

35

40



Kompatibel



Kompatibel

A



Tunggal

B



Konsorsium

Gambar 1. Teknik pengujian kompatibilitas bakteri endofit untuk disusun sebagai konsorsium bakteri endofit (A), dan pengujian konsorsium bakteri endofit dalam mengendalikan *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* in vitro (B).

Dokumen pendukung luaran Tambahan #1

Luaran dijanjikan: Artikel di Jurnal Nasional terakreditasi peringkat 1-3

Target: Accepted

Dicapai: Submitted

Dokumen wajib diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti submit

Dokumen sudah diunggah:

1. Naskah artikel
2. Bukti submit

Dokumen belum diunggah:

-

ANTAGONISTIC FEATURE DISPLAYED BY ENDOPHYTIC BACTERIA CONSORTIUM FOR CONTROL RICE PATHOGENS

Nur Prihatiningsih¹⁾, Heru Adi Djatmiko¹⁾, Puji Lestari²⁾

¹⁾Fakultas Pertanian, ²⁾Fakultas MIPA Universitas Jenderal Soedirman
Jl. dr. Suparno Purwokerto 53123

Email: nur.prihatiningsih@unsoed.ac.id

ABSTRACT

Antagonistic Feature Displayed by Endophytic Bacteria Consortium for Control Rice Pathogens. The purpose of this study was to determine 1) the compatibility of endophytic bacteria as consortium 2) to examine the potency of the endophytic bacterial consortium against rice pathogenic fungi and bacteria, *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo), 3) To know the mechanism of inhibition of endophytic bacteria consortium against rice pathogenic. Experimental research method by testing the growth of endophytic bacteria together in a Petri dish using the streak method to determine the compatibility between endophytic bacteria. The endophytic bacterial consortium test against rice pathogenic fungi and bacteria was carried out in a completely randomized design with 2 treatments and 15 replications. The variables observed were the compatibility of endophytic bacteria, the percentage of inhibition and the zone of inhibition. The mechanism of inhibition was observed from changes in the form of pathogenic fungi and bacteriostatic or bactericidal. The results showed that of the 12 compatible endophytic bacteria as constituents of the consortium, there were 5 isolates of endophytic bacteria, namely A5, A6, KR4, KR7 and SB3. The consortium of endophytic bacteria was able to suppress the growth of *R. solani* by 57.14% and its antibiosis mechanism caused swelling of the mycelium and formed a red pigment. The endophytic bacteria consortium inhibited the growth of Xoo by 15 mm with a bacteriostatic antibiosis mechanism. Consortium endophytic bacteria can be used as an alternative to control plant diseases, and have the opportunity to be formulated.

Key words: antibiosis, bacteriostatic, endophytic bacteria, consortium

INTRODUCTION

The main diseases in rice plants caused by fungi and bacteria are sheath blight by the fungus *Rhizoctonia solani* and bacterial leaf blight by *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo). Both diseases can affect yield reductions by 20-60% and 15-70% (Nuryanto, 2017; Raj et al., 2019). Control of plant diseases using endophytic bacteria is currently mostly carried out with specifications of plant origin, regional origin and potential as well as varying characteristics of endophytic bacteria. Endophytic bacteria can be isolated from several plant organs such as roots, stems, and leaves. The largest population of endophytic bacteria is isolated from the roots.

Rice Endophytic bacteria are bacteria that live in plant tissues without causing damage or symptoms to plants, even providing benefits to plants (Melnick et al., 2011). Lately, endophytic bacteria are also to be able to promote plant growth and yield and even induce plant resistance to pathogens. This potential is possessed by endophytic bacteria because it is able to produce several

compounds as components of plant growth such as Indole acetic acid (IAA), siderophores, phosphatases, HCN, as well as compounds as resistance-inducing components such as phenol, salicylic acid, jasmonic acid, phenylalanine ammonia lyase (Glick, 2012; Kesaulya et al., 2015; Olanrewaju and Babalola, 2019). Endophytic bacteria are considered as rational and safe pathogen controllers for plants and the environment (Beric et al., 2012; Muthukumar et al., 2017), so the application of endophytic bacteria can supported to sustainable agriculture.

Endophytic bacteria singly have the character of producing more than one secondary metabolite, which has a role as biological control agent, growth promoter and inducer of plant resistance to pathogens. The arrangement of a consortium consisting of several compatible endophytic bacteria is beneficial because it has a synergistic function, is more effective, and is more effective in controlling plant pathogens compared to the single application of endophytic bacteria. The results of the research (Yanti et al., 2020), that a consortium of endophytic bacteria is able to control chili anthracnose disease with the consortium constituents being *Bacillus pseudomycoides* strain SLBE 3.1 AP, *Bacillus thuringiensis* strain SLBE 2.3 BB, *Bacillus toyonensis* strain AGBE 2.1 TL. Endophytic bacteria can also induce plant resistance by increasing the content phenol in plants increases the chemical or physical barrier of host plant rather than killing the pathogen as phytoalexin (Jamiołkowska, 2020; Jacob et al., 2020; Oukala et al., 2021).

The inhibition of endophytic bacteria against pathogens has an antibiosis mechanism as indicated by the formation of a zone around the paper disk which was dripped with 10 L suspension of endophytic bacteria consortium. The zone shows the effect of inhibiting the growth or killing of pathogenic fungi and bacteria. Antagonistic bacterial suspensions (cell + extracellular) produce secondary metabolites, or only extracellularly capable of producing several compounds such as chitinase, proteases that act as inhibiting factors for fungi and bacterial pathogens. Chitinase from extracellular *Bacillus subtilis* B298 was produced as an inhibiting factor for the growth of *Colletotrichum* sp. the cause of chili anthracnose with activity of 6,937 U/mL at 15 hours incubation. The effect of various temperatures on chitinase activity showed that optimum activity was achieved at 40°C with an activity of 5.764 U/mL. Meanwhile, the optimum pH for chitinase activity was achieved at pH of 5.0 with an activity of 6.813 U/mL (Lestari et al., 2017). Extracellular protease secreted by *B. subtilis* B315 affects the virulence of bacterial pathogens with combating biofilms formation, and induces stress tolerance in plants. *Ralstonia solanacearum* of chili was inhibited by *B. subtilis* B315 with extracellular protease (Prihatiningsih et al., 2021).

The purpose of this study was to determine 1) the compatibility of endophytic bacteria as consortium, 2) to examine the potency of the endophytic bacterial consortium against rice pathogens fungi and bacteria *Rhizoctonia solani* and *Xoo*. 3) To know the inhibition mechanism of the endophytic bacterial consortium against rice pathogenic.

MATERIALS AND METHODS

Research Site. This research was carried out at the Laboratory of Plant Protection Faculty of Agriculture University of Jenderal Soedirman at March to August 2021.

Preparation of endophytic bacteria consorsium, *R. solani* and *Xoo*

Endophytic bacteria consortium prepared by growth one loopful each five isolat endophytic bacteria A5, A6, KR4, KR7, dan SB3 into 100 ml NB (nutrient broth) medium, shaking with 150 rpm at room temperature 24 hours. *R. solani* was isolated from rice sheath blight symptom on potato

dextrose agar media. *Xoo* was isolated from bacterial leaf blight symptom of rice on potato sucrose agar (PSA) media.

Antagonism Assay endophytic bacteria consortium to fungal and bacterial rice pathogens

The method for assesment inibition endophytic bacteria to *R. solani* according to (Wang et al., 2013) by dual culture methods, in a 9 cm diameter Petri dish containing PDA medium in the middle, a piece of *R. solani* mycelium was inoculated which was cut with a 5 cm diameter cork borer from PDA medium, 1 day later, a paper disk that had been dripped with endophytic bacteria consortium 10 µL was placed on both sides of the *R. solani* mycelium piece, incubated at room temperature for 5 days, the inhibition was observed by measuring the radius of the colony opposite the paper disk of endophytic bacteria consortium (C) and the radius of the colony toward to the paper disk of endophytic bacteria consortium. The percentage of inhibition was calculated by measuring the growth of fungal colonies (Wang et al., 2013; Muthukumar and Venkatesh, 2013).

$$I = \frac{C - T}{C} \times 100\%$$

note:

I = inhibition (%)

C = growth of radius colony opposite with the paper disk of endophytic bacteria consortium.

T = growth of radius colony toward the paper disk of endophytic bacteria consortium

Antagonisme assay of endophytic bacteria consortium against *Xoo* with dual culture method according to Balouiri et al. (2015) was modified by growing *Xoo* by pour plate on NA medium, then the endophytic bacterial consortium suspension was grown in NB medium shaking at 150 rpm for 24 hours, room temperature. Paper disk with a diameter of 6 mm was dripped with 10 µL of that suspension, then placed on a NA medium that had been poured with *Xoo* in three parts. Incubation was carried out at room temperature for 24 hours. A completely randomized design was used in this experiment with 2 treatments (control was *Xoo* growth without endophytic bacteria consortium and

endophytic bacteria consortium) and 15 replications. The observed variables were the zone of inhibition (diameter zona -diameter paper disk), the mechanism of inhibition, and the antibiosis index. The inhibition zone was measured based on the clear zone formed, the diameter of the zone, the diameter of the paper disk, and the radius of the clear zone were measured to calculate the area of inhibition.

Mechanism antibiosis assay of endophytic bacteria consortium

The mechanism of inhibition against pathogenic fungi was observed from the morphological changes of fungi that grew towards bacterial colonies or paper disks with endophytic consortium bacteria with a microscope. The antibiosis mechanism to *Xoo* was observed by taking part of the zone with an Ose needle then inserted into a test tube containing 0.6% peptone water and shaken for 24 hours 150 rpm at room temperature, then observed if the peptone water was cloudy, which the antibiosis mechanism was bacteriostatic meaning it only inhibited the growth of *Xoo*, but if the peptone water was clearly which the antibiosis mechanism is bactericidal, meaning that it is able to kill *Xoo*. Bacteriostatic and bactericidal mechanism showed by Bernatova et al. (2013).

Antibiosis Index

The antibiosis index is measured to determine the antibiosis activity which is usually indicated by the ability of bacteria to produce enzymes or compounds that play a role in antagonism with the antibiosis mechanism. Measurement of the antibiosis index using the formula proposed by Halimahtussadiyah et al. (2017).

$$AI = (A - B) : B$$

A=diameter of zone; B=diameter of colony antagonis or diameter filter paper

The results of the calculation of the antibiosis index are included in the inhibition category according to Stonier (1969 in Azizah (2017) as follow,

a. Very strong, if $AI > 2.0$ with symbol (+++)

b. Strong, if $AI (1-1.9)$ with symbol (++)

c. Weak, if $AI (0.1-0.9)$ with the symbol (+)

d. Does not have antibiosis ability (0,0) with symbol (-)

RESULT AND DISCUSSION

The compatibility test of endophytic bacteria as the basis for consortium composition was evaluated based on intact scratches, no lysis or rupture occurred, the two test isolates were compatible, indicated by isolates A5, A6, KR4, KR7 and SB3 consistently, whereas if there was lysis at the meeting of the scratches the two isolates showed less compatible (Table 1, Figure 1). Based on the characters in Table 1 and Figure 1, five isolates that make up the consortium (Table 2) were selected for the in vitro test on the growth of *R. solani* and *Xoo* with the results shown in Figure 2, 3 and 4. The results of inhibition of the growth of *R. solani* and *Xoo* by the endophytic bacteria consortium are shown in Table 3 with inhibition of 57.14% and 15 mm, respectively (Table 3), or an antibiosis index of 4 with a very strong category (Azizah, 2017). This is similar to the results of research by Abbas et al. (2019), that inhibition of bacteria against *R. solani* is the occurrence of lysis or changes in shape at the tips of the hyphae. Inhibition *Bacillus* B05 can inhibit the growth of *R. solani* in vitro by 30.33-58.00% (Margani et al., 2018). The antagonistic activity of *Bacillus* spp. controls the mycelial growth of fungi, preventing plant fungal disease (Khan et al., 2018). *Bacillus* spp. attach to the mycelial cell walls, and the chitosanase (EC 3.2.1.123), protease (EC 3.4.21.112), cellulase (EC 3.2.1.4), glucanase (EC 3.2.1.21), siderophores, and cyanide acid of the bacteria crack and deform the hyphae, which leads to altered cell structure and functions due to vacuolation and protoplast leakage and mycelial crack (Abbas et al., 2019). Bacterially synthesized antifungal lipopeptides, such as iturin, fengycin, mixirin, pumilacidin, and surfactin, are involved in the destruction of the pathogenic fungi in rhizospheres (Kulimushi et al., 2017; Toral et al., 2018).

The direct mechanism of endophytic bacteria for controlling plant pathogens is by producing an antimicrobial, siderophore, and chitinase enzymes, and other hydrolitic enzymes while the indirect mechanism is through the induction of systemic resistance in plants (Wang et al., 2019; Jacob et al., 2020). Biofilm formation around the root surface by *Bacillus* spp. and their secretion of toxins

(surfactin, iturin, macrolactin, bacillomycin, and fengycin) destroy the pathogenic bacterial populations and reduce disease incidence in plants (Rais et al., 2017; Wang et al., 2019). The endophytic bacterial consortium was inhibit *Xoo* by antibiosis mechanism (Figure 5). A microbial consortium is a group of species of microorganisms that acts together as a community. In a consortium, the organisms work together in a complex and synergistic way. Each endophytic bacterial species has different mechanisms so that the endophytic bacterial consortium can provide various control mechanisms simultaneously, thereby it is more effective in controlling pathogens (Kavya et al., 2020). Many other researchers also found that consortium of PGPR could be better options as plant disease control such as in *Phytophthora* on chili pepper (Zhang et al., 2019), and damping-off and wilt of cabbage by *Pythium* sp. and *Fusarium* sp. (Sudharani et al., 2014).

CONCLUSION

Five isolates of endophytic bacteria that were compatible for the consortium were A5, A6, KR4, KR7, and SB3. The inhibition of the endophytic bacteria consortium in suppressing the growth of *R. solani* was 57.14% with the mechanism of mycelium malformation being swelling of the hyphae tip and lysis. Antibiotic index to *Xoo* is 4 which is categorized as very strong with bacteriostatic inhibition mechanism. Five isolates of endophytic bacteria as a prospective consortium were applied in paddy fields to suppress sheath blight and bacterial leaf blight.

ACKNOWLEDGMENTS

The authors were grateful to the Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi through DRPM as funding research at “Penelitian Terapan” scheme with contract number: 273/SP2H/LT/DRPM/2021.

REFERENCES

- Abbas A, Khan SU, Khan WU, Saleh TA, Khan MHU, Ullah S, Ali A. Ikram M. 2019. Antagonist effects of strains of *Bacillus* spp . against *Rhizoctonia solani* for their protection against several plant diseases: Alternatives to chemical pesticides, *Comptes rendus - Biologies. Académie des sciences*, 342(5–6):. 124–135. doi: 10.1016/j.crvi.2019.05.002.

- 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*. Fakultas Pertanian Universitas Hasanudin, Makassar.
- Balouiri M, Sadiki M and Ibsouda SK. 2015. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity : A review, *Journal of Pharmaceutical Analysis*. Elsevier, (December), pp. 1–9. doi: 10.1016/j.jpha.2015.11.005.
- Beric T, Kojic M, Stankovic S, Topisirovic L, Degrassi G, Myers M, Venturi V, Fira D. 2012. Antimicrobial Activity of *Bacillus* sp . Natural Isolates and Their Potential Use in the Biocontrol of Phytopathogenic Bacteria, *Comptes Rendus Biologies* 50(1): 25–31.
- Bernatova S, Samek O, Pilat Z, Sery M, Jezeh J, Jaki P, Siler M, Krzyzanak V, Zemanek P, Hok V, Dvorachova M and Ruzieka F. 2013. Following the Mechanisms of Bacteriostatic versus Bactericidal Action Using Raman Spectroscopy, *Molecules* 2013 18: 13188-13199. doi: 10.3390/molecules181113188.
- Glick BR. 2012. Plant Growth-Promoting Bacteria : Mechanisms and Applications, Vol 2012: 15 p doi.org/10.6064/2012/963401
- 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 Proses and Engineering (IC3PE) 2017 AIP Conf.Proc* 1823.020062-1-020062-7, pp. 1–7. doi: 10.1063/1.4978135.
- Jacob J, Krishnan GV, Thankappan D, Amma DKBNS. 2020. 4 - *Endophytic bacterial strains induced systemic resistance in agriculturally important crop plants*, *Microbial Endophytes*. Elsevier Inc. doi: 10.1016/B978-0-12-819654-0/00004-1.
- Jamiołkowska A. 2020. Natural Compounds as Elicitors of Plant Resistance Against Diseases and New Biocontrol Strategies. *Agronomy* 2020, 10, 173; doi:10.3390/agronomy10020173
- Kavya, Y. Trimurtulu N, Gopal AV, Vani PM and Prasad NVVSD. 2020. DEVELOPMENT OF PLANT GROWTH PROMOTING MICROBIAL CONSORTIA WITH EFFICIENT ISOLATES, *Asian J. of Microbiol. Biotech. Env.Sc.* 22(2): 334–337.
- Kesaulya H, Baharudin, Zakaria B, Syatrianty A, Syaiful. 2015. Isolation and Physiological Characterization of PGPR from Potato Plant Rhizosphere in Medium Land of Buru Island, *Procedia Food Science*. Elsevier Srl, 3: 190–199. doi: 10.1016/j.profoo.2015.01.021.
- Khan N, Martinez-Hidalgo P, Ice TA, Maymon M, Humm EA, Nejat N, Sanders ER, Kaplan D and Hirsch AN. 2018. Antifungal Activity of *Bacillus* Species Against *Fusarium* and Analysis of the Potential Mechanisms Used in Biocontrol, *Frontiers in Microbiology*, 9(October): 1–12. doi: 10.3389/fmicb.2018.02363.
- Kulimushi PZ, Arias AA, Fraizil L, Steel S and Ongena M. 2017. Stimulation of Fengycin-Type Antifungal Lipopeptides in *Bacillus amyloliquefaciens* in the Presence of the Maize Fungal Pathogen *Rhizomucor variabilis*’, *Frontiers in Microbiology* 8(May): 1–12. doi: 10.3389/fmicb.2017.00850.

- Lestari P, Prihatiningsih N, Djatmiko HA. 2017. Partial biochemical characterization of crude extract extracellular chitinase enzyme from *Bacillus subtilis* B 298, *IOP science.iop.org*, 012041. doi: 10.1088/1742-6596/755/1/011001.
- Margani R., Hadiwiyono and Widadi S. 2018. Utilizing *Bacillus* to inhibit the growth and infection by sheath blight pathogen, *Rhizoctonia solani* in rice, *IOP Conf.Series: Earth and Environmental Science* 142 (2018) 012070. doi: 10.1088/1755-1315/142/1/012070.
- Melnick RL, Suarez C, Baily BA and Backman PA. 2011. Isolation of endophytic endospore-forming bacteria from *Theobroma cacao* as potential biological control agents of cacao diseases, *Biological Control*. Elsevier Inc., 57(3):. 236–245. doi: 10.1016/j.biocontrol.2011.03.005.
- Muthukumar A, Udhayakumar R and Naveenkumar R. 2017. Role of Bacterial Endophytes in Plant Disease Control Chapter 7. doi: 10.1007/978-3-319-66544-3.
- Muthukumar A. and Venkatesh A. 2013. Exploitation of Fungal and Endophytic Bacteria for the Management of Leaf Blight of Ribbon Plant' *Plant Pathology & Microbiology*, (January 2013). doi: 10.4172/2157-7471.1000209.
- Nuryanto B. 2017. Penyakit Hawar Pelepah (*Rhizoctonia solani*) pada Padi dan Taktik Pengelolaannya. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 21(2): 63–71. doi: 10.22146/jpti.22494.
- Olanrewaju OS and Babalola OO. 2019. Bacterial Consortium for Improved Maize (*Zea mays* L .) Production. *Microorganisms* 5 2019, 7.519 doi:10.3390/microorganismn/7110519
- Oukala N, Aissat K. and Pastor V. 2021. Bacterial Endophytes : The Hidden Actor in Plant Immune Responses against Biotic Stress. *Plants* 2021, 10, 1012. pp. 1–24. doi.org/10.3390/plants10051012
- Prihatiningsih N, Asnani A, and Djatmiko HA. 2021. Extracellular protease from *Bacillus subtilis* B315 with antagonistic activity against bacterial wilt pathogen (*Ralstonia solanacearum*) of chili, *Biodiversitas* 22(3), pp. 1291–1295. doi: 10.13057/biodiv/d220327.
- Rais A, Jabeen Z, Shair F, Hafeez FY, Hassan MN. 2017. *Bacillus* spp., a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*, *Plos one* Nov 21.2017:1-17 doi: 10.1371/journal.pone.0187412
- Raj TS, Muthukumar A, Renganathan P, Kumar RSR and Suji Ha. 2019. Biological control of sheath blight of rice caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn using marine associated *Bacillus subtilis*. *Intern Archive of App Sci and Technol.* 10(4): 148-153 doi: 10.15515/iaast.0976-4828.10.4.148153.
- Sudharani M, Shivaprakash MK. and Prabhavathi MK. 2014. Role of consortia of biocontrol agents and PGPR s in the production of cabbage under nursery condition, *Intern. J. of Current Microb. and App Sci* 3(6): 1055–1064.
- Toral L, Rodriguez M, Bejar V, Sampedro I. 2018. Antifungal Activity of Lipopeptides From *Bacillus* XT1 CECT 8661 Against *Botrytis cinerea*. *Frontiers in Microbiology*, 9(June), pp. 1–12. doi: 10.3389/fmicb.2018.01315.
- Wang HK, Xiao RF. and Qi, W. 2013. Antifungal Activity of *Bacillus coagulans* TQ33 , Isolated from

Skimmed Milk Powder , against *Botrytis cinerea*’, *Food Technol. Biotechnol* 51(1): 78-83.

Wang X, Li Q, Sui J, Zhang J, Liu Z, Du J, Xu R, Zhou Y, and Liu X. 2019. Isolation and Characterization of Antagonistic Bacteria *Paenibacillus jamilae* HS-26 and Their Effects on Plant Growth’, *BioMed Research Internas* Vol 2019: 13 p. doi.org/10.1155/2019/3638926

Yanti Y, Hamid H. and Habazar T. 2020. The ability of indigenous *Bacillus* spp . consortia to control the anthracnose disease (*Colletotricum capsici*) and increase the growth of chili plants, *Biodiversitas*, 21 (1): 179–186. doi: 10.13057/biodiv/d210123.

Zhang LN, Wang DC, Hu Q, Dai XQ, Xie YS, Li Q, Liu HM and Guo JH. 2019 Consortium of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Strains Suppresses Sweet Pepper Disease by Altering the Rhizosphere Microbiota, *Frontiers in Microbiology* 10(July), pp. 1–10. doi: 10.3389/fmicb.2019.01668.

Table 1. Selection of 12 isolates rice root endophytic bacteria form marginal lands as a consortium

Number Isolate of rice root endophytic bacteria	The origin of isolate (Central Java)	Compatibility between isolates	Respon of colony growth
A1	Petanahan Kebumen	+	a little lysis
A4	Petanahan Kebumen	+	a little lysis
A5	Petanahan Kebumen	+++	strong growth
A6	Petanahan Kebumen	++	growth
SR5	Patikraja Banyumas	+	a little lysis
SR7	Patikraja Banyumas	+	a little lysis
SM1	Somagede Banyumas	+	a little lysis
KR4	Karangwangkal,Banyumas	+++	strong growth
KR5	Karangwangkal,Banyumas	+	a little lysis
KR7	Karangwangkal,Banyumas	+++	strong growth
SB1	Sumbang Banyumas	+	a little lysis
SB3	Sumbang Banyumas	+++	strong growth

Note: ++: a little lysis (sometime strong, anytime lose with another isolates, lysis, rupture);

+++: growth (good growth with another isolates);

+++: growth and strong (every strong growth with another isolates)

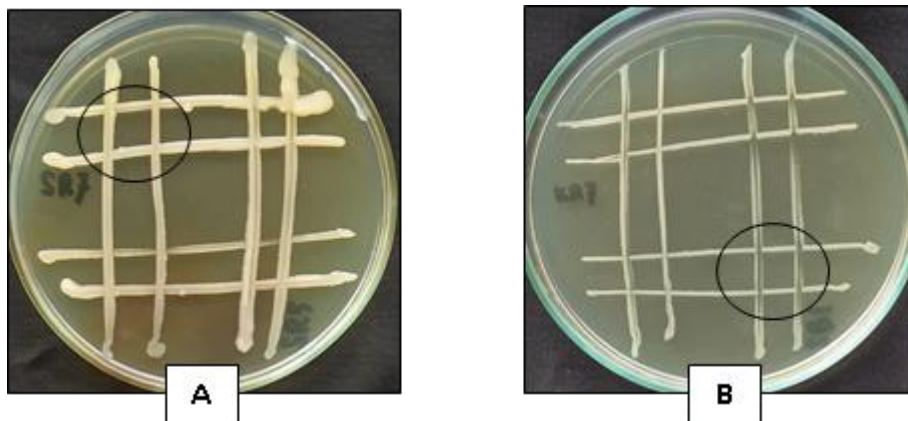


Figure 1. The compatibility test of two isolates endophytic bacteria in each Petridish

Table 2. The five isolats selective as consortium constituents

Compatible isolates	Non compatible isolates	Non stabil compatible
KR4	KR5	A1
KR7	SB1	A4
SB3	SR5	
A5	SR7	
A6	SM1	

Table 3. Inhibition growth of *R. solani* and *Xoo* by endophytic bacteria consortium

Treatments	Inhibition against <i>R. solani</i> (%)	Inhibition mechanism	Inhibition against <i>Xoo</i> (mm)	Antibiosis Index	Inhibition mechanism
Endophytic consortium >< <i>R. solani</i>	57,14	Swelling, red pigmen	-	-	-
Endophytic consortium >< <i>Xoo</i>	-	-	15	4 (very strong)	Bacteriostatic (cloudy)

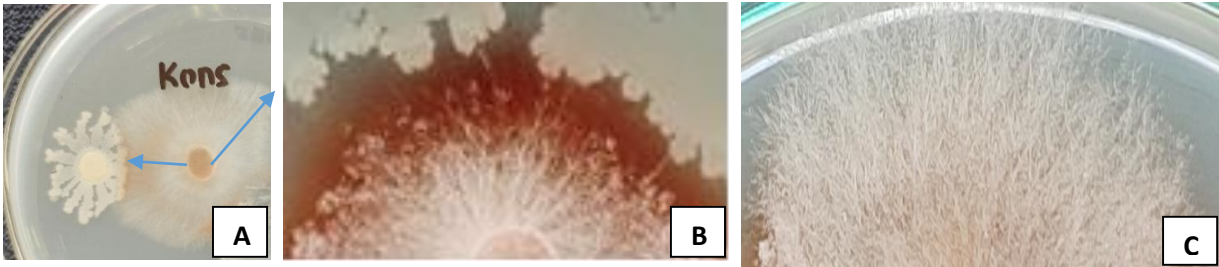


Figure 2. Inhibition of endophytic bacteria consortium against *R. solani*.

- A. The growth of colony *R. solani* toward endophytic bacteria consortium and the opposite one,
- B. The malformation of the hyphae tip
- C. *R. solani* at the normal growth

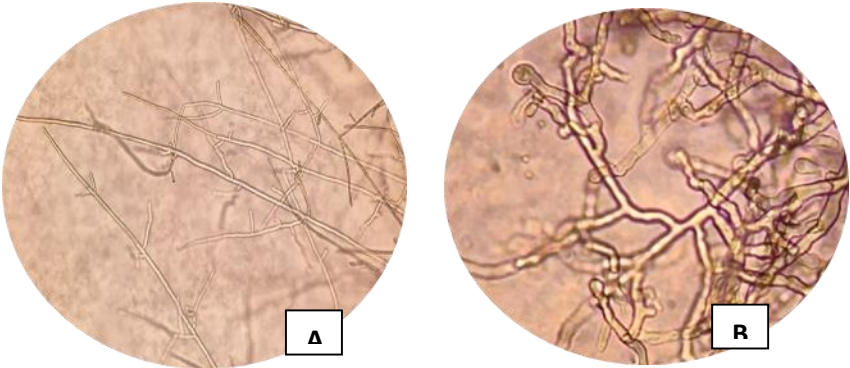


Figure 3. Inhibition mechanism of endophytic bacteria consortium against *R. solani*, malformation of the hyphae tip swelling, lysis and rupture

- A. Normal of hyphae and B. Swelling of the hyphae tip

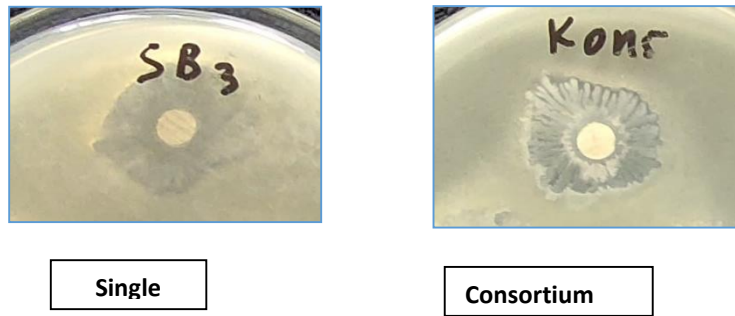


Figure 4. Inhibition growth of *Xoo* by single endophytic bacteria and consortium



Figure 5. Bacteriostatic mechanism of endophytic bacteria consortium against *Xoo*

BUKTI SUBMIT JHPT Tropika

This screenshot shows the submission wizard for JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA. The browser tabs include 'Inbox (982)', 'Kotak Masuk (2.782)', 'Submit an Article | JURNAL H...', 'D:\JHPT Tropika\BCJURNAL...', and '(23) WhatsApp'. The address bar shows the URL 'jhpttropika.fp.unila.ac.id/index.php/jhpttropika/submission/wizard/2?submissionId=618#step-2'. The page header displays the journal name and navigation links. The main content area is titled 'Submit an Article' and features a progress bar with five steps: 1. Start, 2. Upload Submission, 3. Enter Metadata, 4. Confirmation, and 5. Next Steps. Step 3 is currently active. A message box states: 'Your submission has been uploaded and is ready to be sent. You may go back to review and adjust any of the information you have entered before continuing. When you are ready, click "Finish Submission".' Below the message are two buttons: 'Finish Submission' and 'Cancel'. The Windows taskbar at the bottom shows the search bar, application icons, and system tray information including '31°C Cerah' and the date '09/11/2021'.

JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA

← Back to Submissions

Submit an Article

1. Start 2. Upload Submission 3. Enter Metadata 4. Confirmation 5. Next Steps

Your submission has been uploaded and is ready to be sent. You may go back to review and adjust any of the information you have entered before continuing. When you are ready, click "Finish Submission".

Finish Submission Cancel

This screenshot shows the final step of the submission wizard. The progress bar now highlights step 5, 'Next Steps'. The main content area is titled 'Submission complete' and contains the following text: 'Thank you for your interest in publishing with JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA.' followed by 'What Happens Next?'. It explains that the journal has been notified and a confirmation email has been sent. It then lists three actions the user can take: 'Review this submission', 'Create a new submission', and 'Return to your dashboard'. The Windows taskbar at the bottom shows the search bar, application icons, and system tray information including '31°C Cerah' and the date '09/11/2021'.

JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA

← Back to Submissions

1. Start 2. Upload Submission 3. Enter Metadata 4. Confirmation 5. Next Steps

Submission complete

Thank you for your interest in publishing with JURNAL HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN TROPIKA.

What Happens Next?

The journal has been notified of your submission, and you've been emailed a confirmation for your records. Once the editor has reviewed the submission, they will contact you.

For now, you can:

- [Review this submission](#)
- [Create a new submission](#)
- [Return to your dashboard](#)

Dokumen Realisasi Mitra

Dokumen Realisasi Kontribusi/keterlibatan Mitra

Bukti surat pernyataan kerjasama

SURAT PERNYATAAN KESEDIAAN KERJASAMA

Yang bertandatangan di bawah ini

1. Nama : Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S.
NIP : 19610514 198601 2001
Pangkat/Gol : Pembina Utama Muda/IVc
Jurusan/Fakultas : Agroteknologi/Pertanian
Perguruan Tinggi : Universitas Jenderal Soedirman
Alamat : Jl dr Suparno No 61 Purwokerto 53123
Selanjutnya disebut sebagai PIHAK PERTAMA

2. Nama : Emy Triyanti, STP
NIP : 19840315 201502 2 001
Jabatan : Kepala Balai Penyuluhan Pertanian Kec. Kembaran
Alamat : Jl.KH Abdurahman Wahid, Lingsari, Kembaran Purwokerto
Banyumas
Selanjutnya disebut sebagai PIHAK KE DUA

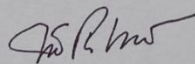
Pihak pertama dan ke dua dengan ini menyatakan kesediaannya untuk bekerjasama dalam pelaksanaan kegiatan penelitian yang didanai DRPM Kementerian Riset dan Teknologi.

Melalui kerjasama ini, sesuai dengan kewenangan dan kemampuan masing-masing, pihak pertama akan menyediakan ilmu dan teknologi yang dikembangkan, dan pihak ke dua akan menerima dan memanfaatkan ilmu dan teknologi.

Surat pernyataan ini dibuat tanpa adanya paksaan, dengan penuh kesadaran dan tanggung jawab.

Purwokerto, 21 Oktober 2020
Yang membuat pernyataan

PIHAK PERTAMA



Dr. Ir. Nur Prihatiningsih. M.S.

PIHAK KE DUA



Emy Triyanti, STP

Kontribusi dan keterlibatan Mitra

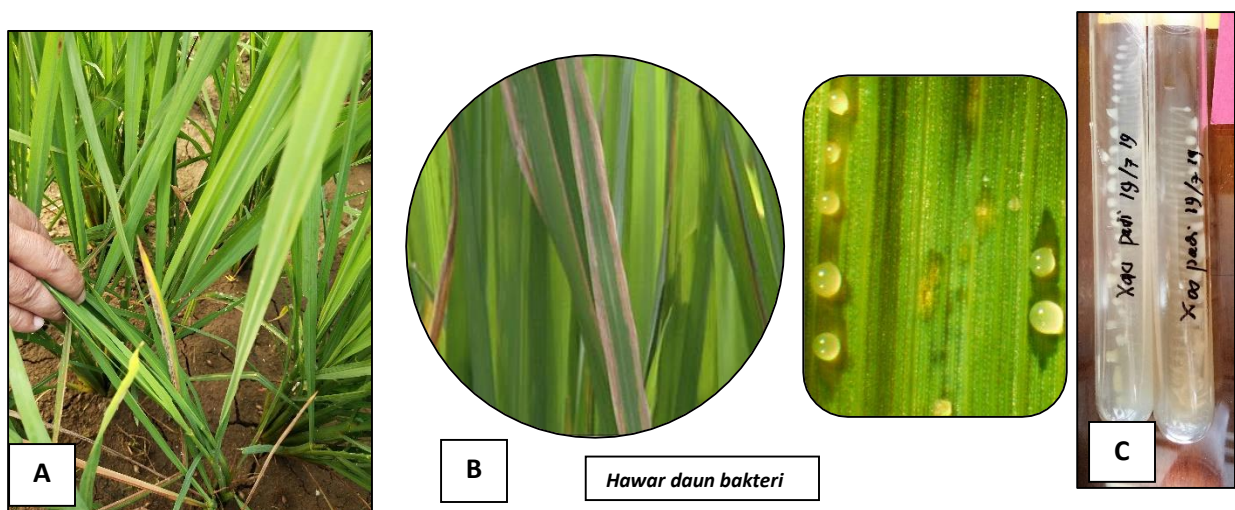
Balai Penyuluhan Pertanian kecamatan Kembaran yang dipimpin oleh Ibu Emy Triyanti, STP siap bekerjasama sebagai mitra dalam penelitian terapan atas nama Nur Prihatiningsih dkk dari UNSOED.

Bentuk kontribusi dan keterlibatan mitra

Pada tahun pertama (2021)

Penelitian penyiapan konsorsium bakteri endofit dilakukan oleh peneliti di laboratorium Perlindungan Tanaman fakultas Pertanian UNSOED

Kontribusi mitra adalah menyediakan lahan sawah dan tanaman padinya digunakan untuk mengambil sampel tanaman sakit hawar daun bakteri yang diisolasi patogennya yaitu *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*.



Gambar 1. Pengambilan sampel daun padi bergejala hawar daun bakteri.

- A. Lokasi tanaman sampel di kecamatan Kembaran; B. Gejala hawar daun bakteri dan ooze bakteri pada daun di pagi hari; C. Hasil isolasi *X.oryzae* pv. *oryzae* pada medium NA