

DISERTASI

**PENGENDALIAN PENYAKIT HAWAR PELEPAH JAGUNG
DENGAN BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT**



**Diajukan oleh:
Endang Mugiastuti
A3A015002**

**Program Studi Ilmu Pertanian
Minat Studi Perlindungan Tanaman**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JENDERAL SOEDIRMAN
PURWOKERTO
2021**

DISERTASI

**PENGENDALIAN PENYAKIT HAWAR PELEPAH JAGUNG
DENGAN BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT**

Diajukan oleh:
Endang Mugiastuti
A3A015002

telah disetujui oleh

Promotor	Tanda tangan	Tanggal
Prof. Ir. Loekas Soesanto, M.S., Ph.D		
Ko-Promotor I		
Ir. Suprayogi, M.Sc., Ph.D		
Ko-Promotor II		
Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S.		

Mengetahui:
Ketua Program Doktor Ilmu Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Jenderal Soedirman
Tanggal



Dr. Ir. Saporso, M.P.

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Nama : Endang Mugiastuti
NIM : A3A015002
Judul Disertasi : Pengendalian Penyakit Hawar Pelepah Jagung Dengan
Bakteri Rizosfer dan Endofit

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Penelitian Disertasi ini merupakan hasil penelitian sendiri dan bukan jiplakan (plagiasi).
2. Pelaksanaan penelitian tahap satu dan empat menggunakan dana mandiri, sedangkan penelitian tahap dua dan tiga didanai oleh Direktorat Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat, Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia melalui Hibah Penelitian Disertasi Doktor Tahun 2020 dengan Nomor Kontrak: 62/SP2H/LT/DRPM/2019.
3. Hak kekayaan intelektual penelitian ini menjadi milik institusi, dalam hal ini Universitas Jenderal Soedirman (Unsoed).
4. Hak publikasi penelitian ini ada pada para peneliti dengan kewajiban mencantumkan nama para peneliti sebagai author/co-author.
5. Jika pemberi dana dari luar Unsoed tidak membuat perjanjian mengenai hak publikasi dengan peneliti, maka hak publikasi sepenuhnya ada pada para peneliti.

Pernyataan ini dibuat sebenar-benarnya, tanpa paksaan atau tekanan apapun dari siapapun. Saya bersedia bertanggungjawab secara hukum apabila terdapat hal-hal yang tidak benar di dalam pernyataan ini.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Disertasi ini hasil plagiasi, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pencabutan gelar akademik yang saya peroleh terkait dengan Disertasi ini

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenar-benarnya.

Purwokerto, 2022

Yang menyatakan,

Endang Mugiastuti
NIM A3A015002

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur senantiasa penulis panjatkan kepada Allah SWT atas Rahmat dan HidayahNya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan disertasi yang berjudul “PENGENDALIAN PENYAKIT HAWAR PELEPAH JAGUNG DENGAN BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT”.

Sejak dimulainya penelitian, hingga selesai penulisan disertasi ini penulis banyak mendapatkan bantuan baik berupa bimbingan, bantuan moral material, gagasan yang kesemuanya sangat bermanfaat bagi penulis. Terima kasih yang mendalam penulis ucapkan kepada yang terhormat:

1. Rektor Universitas Jenderal Soedirman yang telah memberikan izin belajar
2. Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman yang telah memberikan izin belajar dan dorongan semangat.
3. Koordinator Program Studi S3 Ilmu Pertanian beserta seluruh staf, yang selalu memberikan dukungan dan pelayanan selama penulis mengikuti pendidikan.
4. Bapak Prof. Ir. Loekas Soesanto, MS. Ph.D. selaku promotor dan pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan, nasehat, dorongan semangat dan petunjuk arahan sejak dari awal studi sampai penyelesaian disertasi, dengan penuh kesabaran, pengertian dan ketulusan
5. Bapak Ir. Suprayogi, MSc, selaku ko-promotor yang dengan penuh kesabaran, pengertian dan ketulusan telah banyak memberikan bimbingan dan dorongan moral yang sangat berguna dalam pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulisan disertasi ini

6. Ibu Dr. Ir. Nur Prihatiningsih, M.S, selaku ko-promotor yang dengan penuh kesabaran, pengertian dan ketulusan telah banyak memberikan bimbingan dan, dorongan moral yang sangat berguna dalam pelaksanaan penelitian sampai selesainya penulisan disertasi ini,
 7. Ibu Ari Asnani, Ssi, M.Sc. Ph.D; Ibu Prita Sari Dewi, SP. M.Sc. Ph.D, Bapak Dr. Ir. Heru Adi Djatmiko, MP., dan Bapak Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, M.S. selaku Tim Penguji yang telah banyak memberikan masukan dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan Disertasi
 8. Kepala Laboratorium Perlindungan Tanaman Fakultas Pertanian Unsoed, Kepala Laboratorium Kimia Analisis, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Purwokerto, dan Kepala Laboratorium Genetika Science, Tangerang Banten, beserta stafnya yang telah banyak membantu jalannya penelitian disertasi.
 9. Seluruh teman-teman Dosen di Laboratorium Perlindungan Tanaman dan Jurusan Agroteknologi, atas doa dan dukungannya
- Penulis menyadari bahwa disertasi ini masih jauh dari sempurna, namun demikian penulis berharap disertasi ini dapat dapat bermanfaat.

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	x
I. PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan dan Batasan Masalah	6
C. Kebaruan Penelitian.....	7
D. Tujuan Penelitian.....	13
E. Manfaat Penelitian	14
II. ISOLASI DAN PENGKARAKTERAN BAKTERI ANTAGONIS RIZOSFER DAN ENDOFIT, SERTA POTENSINYA UNTUK MENGENDALIKAN JAMUR <i>Rhizoctonia solani</i> KHUN	15
A. Pendahuluan	16
B. Materi dan Metode	18
C. Hasil dan Pembahasan.....	22
D. Simpulan.....	36
III. MEKANISME BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI HAYATI DAN PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN	37
A. Pendahuluan	38
B. Materi dan Metode	41
C. Hasil dan Pembahasan.....	44
D. Simpulan.....	61
IV. UJI KEMAMPUAN BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT HAWAR PELEPAH JAGUNG IN PLANTA. 63	
A. Pendahuluan	64
B. Materi dan Metode	66
C. Hasil dan Pembahasan.....	69
D. Simpulan.....	79
V. IDENTIFIKASI MOLEKUL SERTA ANALISIS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT JAGUNG.....	80
A. Pendahuluan	81
B. Materi dan Metode	83
C. Hasil dan Pembahasan.....	85
D. Simpulan.....	107

VI. PEMBAHASAN UMUM	109
VII. KESIMPULAN UMUM.....	119
RINGKASAN	120
SUMMARY	121
DAFTAR PUSTAKA	122
LAMPIRAN	141
BIODATA.....	

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil penelusuran pustaka terkait pengendalian hawar pelepah jagung	9
2. Hasil penelusuran <i>Bacillus</i> sp. dan <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar yang diisolasi dari pertanaman jagung di GenBank (http://www.ncbi.nlm.nih.gov) .	11
3. Hasil penelusuran pustaka terkait penggunaan mikroba endofit dan rizosfer untuk mengendalikan <i>R. solani</i> pada berbagai tanaman	12
4. Karakter bakteri hasil isolasi dari rizosfer tanaman jagung.....	27
5. Karakter bakteri endofit hasil isolasi dari tanaman jagung.....	28
6. Daya hambat bakteri endofit terhadap <i>R. solani</i>	32
7. Daya hambat bakteri rizosfer terhadap <i>R. solani</i>	33
8. Hasil pengujian aktivitas enzim, siderofor, dan HCN dari bakteri antagonis rizosfer dan endofit	49
9. Hasil pengujian aktivitas bakteri rizosfer dan endofit dalam melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA.....	58
10. Pertumbuhan tanaman jagung	60
11. Kriteria kategori penyakit layu hawar pelepah	68
12. Komponen patosistem penyakit hawar pelepah daun jagung	71
13. Komponen pertumbuhan tanaman jagung	75
14. Urutan basa DNA <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar BB. R1 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	87
15. Urutan basa DNA <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar PPD.B5 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	87
16. Urutan basa DNA <i>Bacillus</i> sp. BB.R3 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	88
17. Urutan basa DNA <i>Bacillus</i> sp. BK.R5 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	88
18. Urutan basa DNA <i>Bacillus</i> sp. BB.B4 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	89

19. Urutan basa DNA <i>Bacillus</i> sp. BK.A1 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R.....	89
20. Kemiripan urutan gen 16S rRNA dari isolat bakteri antagonis	91
21. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>P. fluorescens</i> BB.R1 dengan GC-MS	95
22. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>P. putida</i> PPD.B dengan GC-MS	97
23. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>B. amyloliquefaciens</i> BB.R3 dengan GC-MS	99
24. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>B. subtilis</i> BK.R5 dengan GC-MS.....	101
25. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>B. subtilis</i> BB.B4 dengan GC-MS	103
26. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari <i>B. subtilis</i> BK.A1 dengan GC-MS	105
27. Jumlah dan luas <i>peak area</i> dari gugus senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri antagonis.....	107
28. Ringkasan hasil pengujian kemampuan enam bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung	118

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Penyakit hawar pelepah dan upih jagung.....	19
2. Jamur <i>Rhizoctonia solani</i>	23
3. Bakteri <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar.....	25
4. Pengujian biokimia bakteri antagonis	25
5. Bakteri <i>Bacillus</i> sp	26
6. Keragaman jenis bakteri antagonis hasil isolasi.....	29
7. Uji antagonisme antara bakteri antagonis dan <i>R. solani</i>	34
8. Aktivitas enzim hidrolisis	47
9. Aktivitas siderofor dan HCN	52
10. Hasil pengujian kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat	56
11. Hasil pengujian kemampuan bakteri rizosfer dan endofit dalam menghasilkan IAA.....	57
12. Pertumbuhan tanaman jagung.....	61
13. Gejala penyakit hawar pelepah jagung pada pengujian <i>in planta</i>	70
14. Kurva perkembangan penyakit hawar pelepah jagung.....	74
15. Visualisasi hasil amplifikasi sekuen DNA.....	86
16. Hubungan kekerabatan isolat <i>P. putida</i> PPD.B5 dan BB.R1 dengan isolat pembanding berdasarkan urutan basa gen 16S rRNA	111
17. Hubungan kekerabatan isolat <i>B. amyloliquefaciens</i> BB.R3, <i>B. subtilis</i> BB.B4, BK.R5 dan BK.A1 dengan isolat pembanding berdasarkan urutan basa gen 16S rRNA.....	113

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Jagung merupakan salah satu komoditas yang sangat strategis, baik dalam sistem ketahanan pangan maupun perannya sebagai penggerak perekonomian nasional. Selain sebagai sumber makan pokok kedua setelah beras, jagung juga memegang peran penting dalam pengembangan industri di Indonesia, khususnya sebagai bahan baku industri pangan ataupun industri pakan ternak. Produksi jagung di Indonesia selama 3 tahun terakhir (tahun 2017-2019) mengalami fluktuasi dan cenderung mengalami penurunan masing-masing yaitu mencapai 28,92; 21,65; dan 22,58 juta ton/tahun (Kementerian Pertanian, 2020). Produksi tersebut juga belum mencukupi kebutuhan nasional akan jagung. Pada tahun 2020, Kementerian Pertanian mencatat impor jagung masih dilakukan, dengan realisasi sepanjang Januari-September 2020 mencapai 911.194 ton dengan nilai USD 233,47 juta.

Pemerintah berupaya untuk mewujudkan swasembada jagung melalui peningkatan produksi jagung secara berkelanjutan, di antaranya melalui program Upsus Pajale (Litbang Pertanian, 2017). Namun demikian, upaya meningkatkan produksi jagung di Indonesia seringkali mengalami beberapa kendala, di antaranya adanya serangan hama dan patogen. Penyakit hawar pelepah, yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* Kühn (teleomorf: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk.); *R. solani* Khun f.sp. *sasakii* Exner (teleomorf: *Thanatephorus sasakii* (Shirai) Tu and Kimbrough), merupakan salah satu penyakit yang merugikan pada pertanaman jagung (Rai & Singh, 2018). Penyakit ini pertama kali dilaporkan dari Sri Lanka pada tahun 1927 sebagai penyakit sklerotium. Selanjutnya dilaporkan di Malaysia,

Filipina, Jerman, Amerika Serikat, Nigeria, Venezuela, Pantai Gading, Inggris, Cina, Asia Selatan dan Asia Tenggara (India, Sri Lanka, Indonesia, Kamboja, Bangladesh, Pakistan, Nepal, Myanmar, Jepang, Malaysia, Thailand, Laos, Vietnam, Taiwan, dan Korea), serta berbagai negara penghasil jagung dunia (Singh & Shahi, 2012).

Pada beberapa tahun terakhir, penyakit hawar pelepah jagung menjadi penyakit yang merusak dan mengakibatkan kehilangan hasil yang nyata, serta membatasi produksi di sebagian besar wilayah penanaman jagung di dunia (Zhang *et al.*, 2012). Di antara berbagai penyakit jamur yang memengaruhi produksi jagung, penyakit hawar pelepah merupakan penyakit penting karena dapat menyebabkan kehilangan hasil dari 11% hingga 40%, bahkan hingga 100% pada beberapa kultivar, di beberapa daerah hangat dan lembap yang mendukung perkembangan patogen (Madhavi *et al.*, 2011, Izhar & Chakraborty, 2010; Sharma *et al.*, 2020).

Jamur *Rhizoctonia* merupakan patogen tular-tanah yang mempunyai kemampuan adaptasi tinggi dan merusak banyak tanaman. *R. solani* mempunyai keragaman yang cukup besar dalam morfologi koloni, biokimia dan molekular, patogenisitas dan agresivitas, serta kisaran inang (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018). Jamur *Rhizoctonia* terdiri atas spesies berinti banyak dan berinti dua. Spesies *R. solani* (teleomorf: *T. cucumeris*) berinti banyak dibagi menjadi 14 kelompok anastomosis (AG) meliputi AG-1 hingga AG-10, AG-BI, AG-11, AG-12 dan AG-13 (Mikhail *et al.*, 2010; Tuncer & Eken, 2013; Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018), sedangkan *Rhizoctonia* spp. berinti dua (teleomorf: *Ceratobasidium* Rogers) dikelompokkan menjadi AG-A hingga AG-S (Tuncer & Eken, 2013). Identifikasi 421 isolat *R. solani* asal jagung, 382 isolat diklasifikasikan sebagai kelompok anastomosis AG-1, 10 isolat sebagai AG-2-2, 13 isolat sebagai AG-4 dan 16 isolat

sebagai AG-5. Dari 382 isolat *R. solani* AG-1, hanya 1 yang dikelompokkan sebagai tipe kultur IB dan yang lainnya sebagai kultur tipe IA. Uji patogenisitas menunjukkan bahwa *R. solani* AG-1(IA) merupakan patogen yang paling virulen dalam menyebabkan gejala pelepah daun dan batang jagung, diikuti oleh *R. solani* AG-2-2. *R. solani* AG-2-2 menyebabkan gejala busuk parah pada akar jagung dengan inokulasi tanah (Kim *et al.*, 1993)

Jamur *R. solani* dapat menginfeksi tanaman lebih dari 32 famili dan 188 genus (Singh *et al.*, 2019). Menurut Chaudhary *et al.* (2016) dan Singh *et al.* (2019), jamur dapat menginfeksi anggota famili Gramineae, Poaceae, Papilionaceae, dan Solanaceae, seperti *Cynodon dactylon*, *Oryza sativa*, *Saccharum officinarum*, *Sorghum bicolor*, *Paspalum scrobiculatum*, *Pennisetum americaum*, *P. purpureum*, *Setaria italica*, *Panicum miliaceum*, *Coix lachryma-jobi*, *Echinochloa frumentacea*, *Arachis hypogaea*, *Glycine max*, *Pisum Sativa*, *Vigna radiate*, *Lycopersicum esculentum*, dan *Solanum tuberosum*. Patogen dapat menyerang seluruh stadium tanaman jagung, mulai dari pembibitan hingga tanaman dewasa. Gejala penyakit hawar pelepah dapat diamati pada semua bagian tanaman jagung kecuali rumbai. Gejala penyakit umumnya diawali adanya bercak berbentuk bulat tidak beraturan sampai memanjang dengan diameter 1-3 mm, tampak memutih, berwarna seperti jerami, dan nekrosis. Selanjutnya gejala berkembang, dan menyebabkan hawar pada daun dan pelepah daun, kanker batang, busuk akar, pembusukan biji atau tongkol, dan kematian tanaman (Chaudhary *et al.*, 2016; Sagar & Bhusal, 2019; Singh, *et al.*, 2019). Gejala pada pelepah daun mirip dengan gejala pada daun, namun penyebaran penyakit pada daun lebih cepat dan luas dibandingkan pada pelepah. Pada kondisi alami, penyakit muncul pada tahap pra-pembungaan, yaitu saat tanaman berumur 30

sampai 40 hari setelah tanam. Namun demikian infeksi juga dapat terjadi pada tanaman muda, yang selanjutnya dapat mengakibatkan penyakit yang parah dan kematian daerah apikal tanaman. *R. solani* bertahan hidup di tanah dengan waktu yang lama pada sisa tanaman yang terinfeksi dalam bentuk sklerotium atau miselium (Semangun, 1991).

Upaya penyelamatan hasil akibat penyakit hawar pelepah jagung di Indonesia sangat diperlukan, mengingat luasnya sebaran dan besarnya kerugian yang ditimbulkannya. Selama ini, upaya pengendalian penyakit hawar pelepah masih mengutamakan penggunaan pestisida sintetis (Madhavi *et al.*, 2021). Namun demikian, penggunaan pestisida sintetis untuk mengendalikan patogen tular-tanah, seringkali tidak dapat menekan penyakit secara efektif dan efisien. Menurut Soesanto (2009), ketidakmampuan tersebut di antaranya disebabkan patogen telah tahan terhadap jenis fungisida sintetis yang selalu digunakan, atau patogen target mampu membentuk struktur istirahat. Penggunaan pestisida sintetis yang kurang bijaksana juga dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, organisme bukan sasaran, dan residu pada produk pangan (Aktar *et al.*, 2009; Cawoy *et al.*, 2011; Sagar & Bhusal, 2019). Menurut Soylu *et al.* (2005) dan Meyer *et al.* (2006), pestisida dapat memicu munculnya strain baru patogen yang lebih tahan terhadap bahan kimia. Residu bahan kimia juga berdampak negatif terhadap kehidupan mikroba tanah dan membahayakan lingkungan (Riyaz *et al.*, 2021).

Pengendalian penyakit hawar pelepah melalui pergiliran tanaman sukar dilakukan mengingat inang dari jamur *R. solani* sangat banyak (Vojvodic *et al.*, 2019). Pengendalian menggunakan varietas tahan terkendala dengan terbatasnya sumber gen inang tahan terhadap *R. solani* (Sharma *et al.*, 2002). Hingga saat ini, di

Indonesia belum dilaporkan adanya varietas tahan untuk penyakit hawar pelepah jagung (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2013; Arvan & Aqil, 2020). Evaluasi terhadap 58 galur/varietas jagung di Indonesia, tidak satupun diperoleh galur/varietas yang bersifat tahan, 18 galur/varietas yang bersifat agak tahan, 18 galur/varietas yang bersifat rentan, dan 13 galur/varietas bersifat sangat rentan (Soenartiningih *et al.* 2008). Evaluasi ketahanan dari 282 galur jagung inbrida di Cina juga tidak ditemukan galur yang tahan. Dari 282 galur tersebut, empat galur inbrida (1,42%) mempunyai ketahanan sedang, 47 galur (16,67%) dinyatakan rentan, dan sisanya 231 galur (81,91%) dinyatakan sangat rentan (Wensheng *et al.*, 2013). Menurut Madhavi *et al.*, (2015), keragaman patogen yang tinggi juga mempersulit skrining untuk perakitan tanaman tahan.

Pengendalian hayati dapat dijadikan alternatif pengendalian yang aman, efektif, dan berwawasan lingkungan, serta mendukung pertanian berkelanjutan di Indonesia. Pengendalian hayati berpotensi melindungi tanaman dengan senyawa toksin yang dihasilkan oleh agensia hayati. Di samping itu, beberapa agensia pengendali hayati, utamanya bakteri antagonis dapat berinteraksi dengan tanaman dengan menghasilkan, zat pengatur tumbuh, membantu kelarutan nutrisi, serta mengimbas ketahanan tanaman (Sharma *et al.*, 2013; Ahanger *et al.*, 2014; Ahemad & Kibret, 2014; Saeed *et al.*, 2021). Agensia pengendali hayati juga bersifat hidup dan dapat berkembang biak, sehingga kemempnannya di lapangan dapat bertahan lama dan berkelanjutan (Tsegaye *et al.*, 2018). Penggunaan agensia hayati dalam pengendalian penyakit tanaman memiliki beberapa kelebihan di antaranya dapat mengurangi pencemaran lingkungan bahan kimia dari insektisida, lebih efisien, berkelanjutan,

tidak merusak keragaman hayati, dan sesuai dengan cara pengendalian lainnya (Sharma *et al.*, 2013)

Metode pengendalian hayati klasik dengan mendatangkan agensia pengendali hayati ke dalam suatu lingkungan yang baru terkadang kurang memberikan hasil yang memuaskan dan mempunyai beberapa kelemahan (Schulz *et al.*, 2019). Hal ini diduga berkaitan dengan kemampuan mikroba tersebut untuk beradaptasi dengan lingkungan barunya. Menurut Compant *et al.* (2005) dan Es-soufi *et al.* (2017), pertumbuhan dan perkembangan mikroba sangat dipengaruhi oleh lingkungan setempat, sehingga sangat memengaruhi keefektifan dari mikroba antagonis tersebut. Perubahan iklim dan kondisi air merupakan faktor penting yang memengaruhi aktivitas mikroba antagonis (Es-soufi *et al.*, 2017). Penggunaan mikroba yang diisolasi dari pertanaman jagung (*indigenous*) diharapkan dapat mengatasi permasalahan tersebut.

Sampai saat ini penggunaan agensia pengendali hayati untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah dan upih daun sudah mulai dikembangkan. Penggunaan *Trichoderma* yang diisolasi dari rizofe tanaman jagung telah dilakukan dan dapat menekan keparahan penyakit sebesar 14,9 % (Sagar *et al.* 2020). Di India, formula tawar dari *Trichoderma asperellum* dan *Bacillus subtilis* dapat mengurangi kejadian penyakit hawar pelepah dan menyelamatkan hasil jagung (Raju *et al.* 2020). Menurut Sagar & Bhusal (2019) dan Singh *et al.* (2019), *Rhizoctonia solani* juga dapat dikendalikan sejumlah spesies mikroba, seperti *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Laetisaria*, *Pseudomonas fluorescens*, dan nematoda *Aphelenchus avenae*.

Di Indonesia, penelitian tentang penggunaan agensia hayati untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah sudah mulai dilakukan baik dari golongan

jamur antagonis ataupun bakteri antagonis. Dari golongan jamur antagonis, mikroba antagonis yang berpotensi dan mampu mengendalikan penyakit hawar pelepah daun di antaranya *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Aspergillus*, jamur mikoriza arbuskular *Glomus* sp. dan *Acaulospora mellea*. *Trichoderma* sp. dapat menekan perkembangan penyakit busuk pelepah 29-70 %, sedangkan *Gliocladium* sp. 23-53 %. (Mulyati, 2009; Soenartiningsih, 2013; Soenartiningsih *et al.*, 2014, Soenartiningsih *et al.*, 2015). Dari golongan bakteri antagonis, *B. subtilis* TM4 asal rizosfer jagung dari Kabupaten Gowa Sulawesi Selatan efektif menekan perkembangan penyakit penyakit hawar pelepah dan upih daun melalui perlakuan benih (Muis *et al.*, 2016; Djaenuddin *et al.*, 2017).

B. Rumusan dan Batasan Masalah,

Berdasarkan latar belakang penelitian di atas, dapat dirumuskan masalah yang ada sebagai berikut:

1. Penyakit hawar pelepah jagung masih menjadi kendala utama pada budidaya jagung, termasuk di Indonesia.
2. Pengendalian penyakit hawar pelepah jagung merupakan satu hal yang sangat penting untuk penyelamatan produksi jagung. Pengendalian menggunakan varietas tahan dan rotasi tanaman terkendala terbatasnya sumber genetik tahan dan banyaknya inang *R. solani*. Pengendalian dengan menggunakan kimia seringkali tidak efektif untuk patogen tular-tanah, karena patogen mampu membentuk struktur istirahat, serta dapat berdampak negatif terhadap lingkungan.

3. Pengendalian hayati klasik dengan mendatangkan agensia pengendali hayati ke dalam suatu lingkungan yang baru, seringkali kurang memberikan hasil yang memuaskan dan mempunyai beberapa kelemahan.
4. Sampai saat ini, di Indonesia belum dilaporkan adanya isolat bakteri antagonis, khususnya *Bacillus* dan *Pseudomonas* kelompok pendar, indigenous asal rizosfer atau endofit jagung, yang telah berhasil diisolasi serta diketahui mekanisme dan metabolit sekunder yang dihasilkannya, untuk dapat dikembangkan sebagai pengendali penyakit hawar pelepah jagung

Selanjutnya pembatasan masalah dari penelitian ini adalah pengendalian penyakit hawar pelepah jagung dengan menggunakan bakteri antagonis (*Bacillus* sp dan *Pseudomonas* kelompok pendar) yang diisolasi dari rizosfer dan endofit jagung, dikarakter morfologi, biokimia dan molekuler, serta diketahui senyawa metabolit yang dihasilkannya.

C. Kebaruan Penelitian

Berdasarkan penelusuran pustaka, berbagai penelitian telah dilakukan dalam upaya pengendalian penyakit hawar pelepah daun jagung, terutama pengendalian kimiawi, varietas tahan dan pengendalian hayati. Penggunaan agensia hayati untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah daun jagung juga telah banyak diteliti dan dikembangkan baik di luar negeri ataupun Indonesia. Namun demikian, berdasarkan penelusuran pustaka, penelitian di Indonesia tentang penggunaan bakteri antagonis yang diisolasi dari pertanaman jagung untuk mengendalikan hawar pelepah daun jagung belum pernah dilakukan di Indonesia (Tabel 1). Berdasarkan penelitian tersebut, sebagian besar mikroba antagonis yang pernah digunakan untuk mengendalikan penyakit hawar daun berasal dari rizosfer dari berbagai jenis

Tabel 1. Hasil penelusuran pustaka terkait pengendalian hawar pelepah jagung

No	Pengujian	Jenis pengendalian	Negara /Daerah	Hasil pengujian	Peneliti
1	Perlakuan pestisida pada benih jagung untuk menekan infeksi <i>R. solani</i> dan <i>Pratylenchus penetrans</i>	Kimiawi	Iowa	Perlakuan benih dengan fungisida dan nematisida dapat menekan penyakit hawar pelepah	Da Silva <i>et al.</i> , 2017
2	Evaluasi fungisida terhadap <i>Rhizoctonia solani</i> f.sp <i>sasakii</i> penyebab penyakit hawar daun Jagung	Kimiawi	India	Fungisida mampu menghambat jamur <i>Rhizoctonia solani</i> f.sp <i>sasakii</i>	Madhavi <i>et al.</i> , 2021
3	Pengelolaan penyakit hawar pelepah jagung dengan fungisida dan agens pengendali hayati	Kimiawi dan hayati	India	Perlakuan benih dengan carbendazim dan <i>Trichoderma viride</i> mencatat indeks keparahan penyakit terendah yaitu masing-masing 37,93% dan 41,90%	Rani, <i>et al.</i> , 2013
4	Pengujian agensia pengendali hayati dan fungisida terhadap penyakit hawar pelepah daun jagung	Kimiawi dan hayati	India	Fungisida propikonazol, carbendazim dan mancozeb dapat menghambat jamur 100 %. <i>T. harzianum</i> dan <i>P. fluorescens</i> serta campurannya dapat menghambat jamur antara 41,18-62,35%.	Sharma <i>et al.</i> , 2020
5	Perubahan fenolik jagung pasca infeksi <i>Rhizoctonia solani</i> f. sp. <i>sasakii</i> penyebab penyakit hawar dan upih daun	Ketahanan tanaman	India	Kandungan fenol meningkat setelah infeksi. Peningkatan pada kultivar tahan lebih tinggi dibandingkan kultivar rentan.	Akhtar <i>et al.</i> , 2011
6	Ketahanan 282 galur inbrida terhadap penyakit hawar pelepah jagung	Ketahanan tanaman	Cina	Tidak ditemukan plasma nutfah yang imun dan sangat tahan, empat galur inbrida dengan ketahanan sedang.	Wensheng <i>et al.</i> , 2013
7	Pengendalia hayati penyakit hawar pelepah jagung dengan formula gambut <i>Pseudomonas fluorescens</i>	Hayati/rizosfer padi, jagung, buncis, pigeon	India	Dosis 16-20 g/kg biji dapat menurunkan penyakit lebih dari 50 %	Sivakumar <i>et al.</i> , 2000
8	Effektivitas <i>Bacillus subtilis</i> (Ehrenberg) Cohn terhadap <i>Rhizoctonia solani</i> Kuhn in vitro	Hayati/rizosfer jagung	Filipina	<i>Bacillus</i> rizosfer jagung mampu mengendalikan <i>R. solani</i> , secara <i>in vitro</i> dan rumah kaca.	Muis & Quimio, 2006
9	Pengendalian penyakit hawar pelepah daun jagung dengan beberapa agensia hayati golongan cendawan	Hayati/rizosfer jagung	Jambi	Penggunaan <i>Trichoderma</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Aspergillus</i> secara tunggal dan gabungan untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah	Mulyati, 2009
10	Kajian pengendalian penyakit hawar daun dan pelepah daun jagung dengan menggunakan <i>P. fluorescens</i>	Hayati/rizosfer jagung	India	<i>P. fluorescens</i> asal rizosfer mampu menghambat pertumbuhan miselium dan perkecambahan sklerotium <i>R. solani</i> serta dapat memacu pertumbuhan benih jagung.	Madhavi <i>et al.</i> , 2011

11	Potensi Jamur Mikoriza Arbuskular dalam Mengendalikan Penyakit Busuk Pelepah pada Tanaman Jagung	Hayati /mikoriza	Tidak dilaporkan	Inokulasi mikroriza 100-300 spora berpotensi untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung	Soenartiningih, 2012
12	Efektivitas <i>Trichoderma</i> sp. dan <i>Gliocladium</i> sp. sebagai Agen Biokontrol Hayati Penyakit Busuk Pelepah Daun pada Jagung	Hayati/rizosfer	Jawa Timur dan Sulawesi Selatan	Hasil penelitian di lapang menunjukkan penggunaan <i>Trichoderma</i> sp. dan <i>Gliocladium</i> sp. menurunkan penyakit hingga 67% dan kehilangan hasil jagung hingga 23%	Soenartiningih et al., 2014a
13	Pemanfaatan Endofitik Actinomycetes dan Mikoriza dalam Menginduksi Ketahanan Terhadap <i>R. solani</i> dan Promosi Pertumbuhan Tanaman	Hayati	Pangkep	Kombinasi mikoriza dan actinomycetes mampu menekan tingkat serangan patogen sampai 70%.	Mulyani, et al., 2015
14	Evaluasi pembawa formulasi <i>B. subtilis</i> untuk pengendalian penyakit hawar pelepah jagung	Hayati/tidak dilaporkan asal isolat	Sulawesi Selatan	Tidak dijelaskan asal isolat <i>B. subtilis</i> . Talk dan tepung merupakan pembawa terbaik	Muis et al., 2016
15	Formula <i>B. subtilis</i> TM4 untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung	Hayati/tidak dilaporkan asal isolat	Sulawesi Selatan	Tidak dijelaskan asal isolat <i>B. subtilis</i> . Aplikasi formula <i>B. subtilis</i> TM4 pada benih efektif menekan penyakit hawar pelepah	Djaenuddin et al., 2017
16	Penggunaan formula <i>B. subtilis</i> BNt8 untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung	Hayati/tidak dilaporkan asal isolat	Sulawesi Selatan	Tidak dijelaskan asal isolat <i>B. subtilis</i> . Perlakuan benih dengan konsentrasi 3% dapat menekan penyakit hawar pelepah	Djaenuddin et al., 2017
17	Potensi Bakteri Endofit Isolat Rumput Angin (<i>Spinifex littoreus</i> (Burm F.) Merr) terhadap <i>R. solani</i> Jagung	Hayati/endofit : rumput angin	Sumatera Utara	Diperoleh 5 isolat yang mampu menghambat <i>R. solani</i> , menurunkan intensitas penyakit 80%.	Rambe, 2018
18	Potensi Mikroba Antagonis <i>B. cereus</i> dan <i>Trichoderma</i> sp. Terhadap Patogen Penting Tanaman Jagung	Hayati//tidak dilaporkan asal isolat	Makasar	<i>B. cereus</i> dan <i>Trichoderma</i> sp. mampu menghambat pertumbuhan <i>R. solani</i> berturut-turut sebesar 55,55% dan 71,11%.	Ariyanti et al., 2021

tumbuhan, dan hanya satu yang dilakukan di India berasal dari rizosfer jagung. Penelusuran keberadaan isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar asal Indonesia yang diisolasi dari rizosfer dan endofit jagung di GenBank, hingga saat ini juga belum ditemukan (Tabel 2).

Penelitian tentang penggunaan bakteri rizosfer dan endofit untuk mengendalikan *R. solani* pada berbagai tanaman, selain jagung, sudah dilaporkan di Indonesia dan luar negeri (Tabel 3). Berdasarkan penelitian-penelitian tersebut, penggunaan bakteri rizosfer dan endofit mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani* dan mengendalikan penyakit yang ditimbulkannya. Namun demikian, untuk digunakan sebagai pengendali penyakit hawar pelepah jagung perlu dilakukan pengujian lebih lanjut.

Tabel 2. Hasil penelusuran *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar yang diisolasi dari pertanaman jagung di GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>)

No	Bakteri	Negara	Keterangan
1	<i>Pseudomonas</i> kelompok pendar	Indonesia	Tidak ditemukan
2	<i>Pseudomonas</i>	Indonesia Dunia	Terdapat 1 isolat asal rizosfer jagung Terdapat 59 isolat asal akar, 25 isolat asal daun, 545 isolat asal tanah, 43 isolat asal batang (beberapa di antaranya termasuk <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar)
3	<i>Bacillus</i>	Indonesia Dunia	Tidak ditemukan Terdapat 1975 isolat asal tanah soil, 311 isolat asal akar, 72 isolat asal batang, 30 isolat asal daun
4	<i>Bacillus subtilis</i>	Indonesia Dunia	Tidak ditemukan Terdapat 136 isolat asal soil, 9 isolat asal daun, 24 isolat asal akar, 1 isolat asal batang
5	<i>B. amyloliquifaciens</i>	Indonesia Dunia	Tidak ditemukan Terdapat 8 isolat asal tanah, 1 isolat asal akar, 2 isolat asal daun

Pada penelitian ini dilakukan serangkaian penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit tanaman jagung yang spesifik, mampu mengendalikan penyakit hawar pelepah daun dan adaptif terhadap lingkungan. Selanjutnya bakteri antagonis tersebut dilakukan identifikasi dan pengujian fisiologi biokimia sampai molekular, serta pengujian kemampuan bakteri tersebut secara *in vitro* dan *in planta* dengan beberapa mekanisme pengendalian, sebagai bagian dari strategi pengendalian penyakit hawar daun pada pertanaman jagung.

Kebaruan penelitian ini adalah:

1. Diperolehnya bakteri antagonis *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp. asal rizosfer ataupun endofit jagung yang pertama di Indonesia
2. Diperolehnya bakteri antagonis *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp. indigenous jagung sebagai pengendali penyakit hawar pelepah daun dan pemacu pertumbuhan tanaman jagung yang efektif dan adaptif untuk diterapkan di Indonesia.

Tabel 3. Hasil penelusuran pustaka terkait penggunaan mikroba endofit dan rizosfer untuk mengendalikan *R. solani* pada berbagai tanaman

No	Pengujian	Tanaman asal/uji	Negara /Daerah	Hasil pengujian	Peneliti
Mikroba Rizosfer					
1	Aktivitas enzim kitinase dan -1,3-glukanase dari <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar terhadap <i>Phytophthora capsici</i> dan <i>R solani</i> in vitro	kentang	Korea Selatan	Bakteri mampu menghambat pertumbuhan jamur secara in vitro sekitar 36 %	Arora <i>et al.</i> , 2007
2	Interaksi <i>Pseudomonas fluorescens</i> dengan <i>Pythium ultimum</i> dan <i>Rhizoctonia solani</i>	mentimun	Palestina	Hifa jamur mengalami degradasi dan perubahan morfologi	Salman <i>et al.</i> , 2013
3	Karakterisasi enzim mikolitik <i>Bacillus</i> dan perannya dalam perlindungan <i>Rhizoctonia solani</i>	tomat	India	<i>B. amyloliquifaciens</i> MB101 dan <i>B. subtilis</i> MB14 dapat menurunkan penyakit ≥ 60 %	Solanki <i>et al.</i> , 2012
4	Evaluasi <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan pengendali <i>Rhizoctonia solani</i>	buncis & gandum	Iran	Terdapat 41 isolat <i>Pseudomonas</i> kelompok pendar dengan antagonisme tinggi, namun sangat beragam dalam menghasilkan HCN, siderofor, antibiotik dan memacu pertumbuhan	Ahmadzadeh & Tehrani, 2009
5	Perlakuan benih tomat dengan Iturin dari <i>B. subtilis</i> RB14 untuk mengendalikan <i>R. solani</i>	tomat	Jepang	Terjadi penurunan kejadian penyakit sebesar 80%	Zohora <i>et al.</i> , 2016
6	Peran Fengisin dari <i>Bacillus subtilis</i> NCD-2 dalam mengendalikan penyakit rebah semai	kapas	Cina	Fengisin dari <i>B. subtilis</i> NCD-2. membatasi populasi <i>R. solani</i> di rizosfer	Guo <i>et al.</i> , 2014
7	Seleksi <i>Pseudomonas</i> sp. asal rizosfer kedelai sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dan pengendali hayati	kedelai	Bogor, Indonesia	Dari 14 isolat yang berhasil diisolasi, 2 isolat berpotensi menghambat <i>R. solani</i>	Wahyudi <i>et al.</i> , 2011
8	Aplikasi formula campuran rizobakteri untuk pengendalian penyakit busuk akar <i>Rhizoctonia</i> dan peningkatan hasil kedelai di tanah ultisol	kedelai	Kendari, Indonesia	aplikasi rizobakteri pada benih 2 dan 4 minggu setelah tanam efektif mengendalikan penyakit busuk akar <i>Rhizoctonia</i>	Khaeruni <i>et al.</i> , 2014
9	Uji antagonis bakteri rizosfer padi sawah organik terhadap <i>R. solani</i> secara in vitro	padi	Boyolali, Indonesia	Diperoleh 4 isolat yang mampu menghambat <i>R. solani</i> dengan penghambatan 27,74-70%.	Kusmiyati, 2015
10	Uji antagonis bakteri rizosfer pisang terhadap cendawan patogen <i>R. solani</i>	pisang	Makasar, Indonesia	Diperoleh 10 isolat bakteri yang mampu menghambat <i>R. solani</i> , meliputi genus <i>Enterobacter</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Micrococcus</i> , dan <i>Staphylococcus</i> .	Dewi, 2015
11	Potensi bakteri rizosfer lamtoro di UB Forest sebagai pengendali penyakit rebah kecambah <i>R. solani</i> pada tanaman kedelai	lamtoro/ kedelai	Malang, Indonesia	Diperoleh 31 isolat bakteri dan 9 isolat di antaranya bersifat antagonis terhadap <i>R. solani</i>	Djemelyana, 2018

12	Peran komunitas bakteri dalam penekanan alami <i>R. solani</i> pada gandum	gandum	USA	Adanya peran bakteri rizosfer terhadap penekanan penyakit gandum karena <i>R. solani</i>	Yin <i>et al.</i> , 2013)
13	Uji antagonisme <i>B. cereus</i> terhadap <i>R. solani</i> dan <i>Sclerotium rolfsii</i>	tembakau	Temanggung /Malang, Indonesia	<i>Bacillus</i> sp. mampu menghambat pertumbuhan <i>R. solani</i> dan <i>S. rolfsii</i> masing-masing sebesar 68,9% dan 33%	Hidayah & Yulianti, 2016
Mikroba Endofit					
14	Skrining bakteri endofit terhadap jamur patogen tanaman	35 jenis tanaman	Jepang	<i>Bacillus</i> sp. KL1 mampu menghambat <i>F. oxysporum</i> dan <i>R. solani</i> .	Ohike <i>et al.</i> , 2013
15	Aktivitas <i>Bacillus</i> sp. asal padi terhadap penyakit hawar pelepah dan hawar panikel padi	padi	USA	26 isolat memiliki aktivitas antagonis terhadap <i>R. solani</i> atau <i>B. glumae</i> .	Shrestha <i>et al.</i> , 2016
16	Bakteri endofit dari tumbuhan pepakuan sebagai agensia hayati <i>R. solani</i> dan pemacu pertumbuhan tanaman padi	pepakuan/ padi	Bogor, Indonesia	Diperoleh 4 isolat bakteri endofit yang dapat menghambat jamur 27–76% dan memacu pertumbuhan tanaman.	Asmoro & Munif, 2020
17	Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan	padi	Jawa & Sumatera, Indonesia	Hasil isolasi diperoleh 41 isolat bakteri endofit menunjukkan reaksi antibiosis terhadap <i>R. solani</i>	Munif <i>et al.</i> , 2012
18	Efektivitas penekanan penyakit hawar pelepah padi oleh bakteri endofit isolat Artemisia	padi	Solo, Indonesia	Isolat BEA 12 mampu menghambat <i>R. solani</i> sebesar 49 %	Ambarsari, 2019
19	Eksplorasi bakteri endofit sebagai agens hayati pada tanaman kersen (<i>Muntingia calabura</i> L.)	Kersen/ padi	Ambon, Indonesia	Diperoleh isolat BK6 yang menghambat <i>R. solani</i> sebesar 77%, namun tidak mampu memacu pertumbuhan padi	Leiwakabessy & Latupeirissa, 2013
21	Efektivitas bakteri rizosfer untuk pengendalian penyakit busuk akar dan meningkatkan pertumbuhan tanaman gandum	gandum	India	<i>Pseudomonas</i> WPS3 dan WPS90 menurunkan penyakit <i>R. solani</i> sebesar 88,9 dan 66,7%, serta berpotensi meningkatkan pertumbuhan	Dua & Sindhu, 2012
22	Aplikasi bakteri endofit untuk biokontrol penyakit rebah sebah semai <i>R. solani</i>	kapas	Mesir	Terjadi penurunan intensitas penyakit, peningkatan pertumbuhan dan induksi ketahanan	Selim & Essa, 2017
23	Pengendalian hayati <i>R. solani</i> dengan senyawa organik volatil dari bakteri endofit biji	solanaceae	Tunisia	senyawa volatil yang dihasilkan <i>Bacillus</i> sp.: 2-heptanone, pyrazine, 2,5-dimethyl-, naphthalene, dan benzenamine yang beracun terhadap <i>R. solani</i>	Marzouk <i>et al.</i> , 2021
24	Bakteri endofit untuk mengendalikan <i>F. oxysporum</i> dan <i>R. solani</i>	kentang	Mexico	Bakteri mampu menghambat penyakit dan meningkatkan pertumbuhan tanaman	Del Angel <i>et al.</i> , 2017
25	Pengendalian hayati penyakit batang <i>Rhizoctonia</i> dengan menggunakan kombinasi mikroba endofit pada padi rawa	padi rawa	Kalimantan, Indonesia	terjadi penurunan penyakit antara 58,70 - 87,29%	Budi, 2013

D. Tujuan Penelitian

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri rizosfer dan endofit yang efektif untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah tanaman jagung, sebagai upaya pengendalian penyakit yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Upaya untuk mencapai tujuan penelitian umum tersebut akan dilakukan 4 tahap penelitian, dengan tujuan khusus tiap tahap sebagai berikut:

1. Penelitian tahap I bertujuan untuk:
 - a. mendapatkan bakteri antagonis rizosfer dan endofit jagung dari beberapa ketinggian tempat yang berpotensi untuk mengendalikan jamur *R. solani*.
 - b. menguji kemampuan bakteri rizosfer dan endofit dalam menghambat pertumbuhan jamur *R. solani in vitro*.
 - c. menguji kemampuan bakteri rizosfer dan endofit dalam memacu pertumbuhan tanaman.
2. Penelitian tahap II bertujuan untuk menentukan mekanisme bakteri rizosfer dan endofit berpotensi (hasil tahap I) baik sebagai pengendali hayati ataupun pemacu pertumbuhan tanaman
3. Penelitian tahap III bertujuan untuk menguji kemampuan bakteri rizosfer dan endofit (hasil tahap I dan II) dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung di rumah kaca
4. Penelitian tahap IV bertujuan mengidentifikasi secara molekuler bakteri rizosfer dan endofit (hasil tahap I, II, III) beserta jenis metabolit sekunder yang dihasilkan.

E. Manfaat Penelitian

Informasi dan pengetahuan tentang bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit jagung dengan mekanisme antagonisme dan senyawa metabolit yang dihasilkan, diharapkan dapat memperkaya informasi yang telah ada tentang bakteri rizosfer dan endofit jagung, khususnya dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas* kelompok pendar. Selain itu, diharapkan juga dapat memberikan landasan penyusunan strategi pengelolaan penyakit pada tanaman jagung, khususnya penyakit hawar pelepah jagung.

II. ISOLASI DAN PENGKARAKTERAN BAKTERI ANTAGONIS RIZOSFER DAN ENDOFIT, SERTA POTENSINYA UNTUK MENGENDALIKAN JAMUR *Rhizoctonia solani* Khun

Intisari

Penelitian bertujuan untuk mengisolasi serta mengkarakter secara morfologi dan biokimia bakteri rizosfer dan endofit tanaman jagung, serta potensinya untuk mengendalikan *Rhizoctonia solani*, penyebab penyakit hawar pelepah jagung. *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar dapat diisolasi dari rizosfer dan endofit tanaman jagung, baik di dataran rendah-menengah maupun tinggi. Pengambilan sampel untuk isolasi bakteri antaogonis dilakukan di Kabupaten Banyumas dan Purbalingga, dari 2 kelompok ketinggian tempat yaitu dataran rendah-sedang (0-500 m di atas permukaan laut), dan dataran tinggi (>500 m dpl). Umur tanaman jagung berkisar 20-30 hari setelah tanam. Hasil isolasi bakteri antagonis diperoleh 25 isolat bakteri rizosfer terdiri atas 8 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar dan 17 isolat bakteri *Bacillus* sp. serta 27 isolat bakteri endofit terdiri atas 9 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar dan 18 isolat bakteri *Bacillus* sp. *Pseudomonas* pada medium King's B berbentuk bulat, berpendar di bawah lampu ultraviolet, Gram negatif, berbentuk batang, tidak berspora, oksidase dan katalase positif. *Bacillus* sp. mempunyai koloni bulat, bentuk sel batang, membentuk endospora, Gram positif, katalase dan oksidase positif. Sejumlah 11 isolat bakteri endofit dan 12 bakteri rizosfer berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia pengendali hayati, karena mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* $\geq$ 50 %, dan mampu menyebabkan gangguan pada miselium jamur.

Kata kunci: *Bacillus*, hawar pelepah, jagung, *Pseudomonas*, karakter.

Abstract

The study was aimed to isolate and characterize morphologically and biochemically rhizospheric and endophytic bacteria of maize and their potential to control *Rhizoctonia solani*, the cause of sheath blight of maize. *Bacillus* sp. and fluorescent *Pseudomonad* group could be isolated from the rhizospheric and endophytic of maize cultivated in the low-middle and highlands. Sampling for the isolation of antagonistic bacteria was carried out in Banyumas and Purbalingga Regencies from 2 groups of altitude, namely low-medium (0-500 m above sea level) and highland (>500 m asl). The age of maize plants ranged from 20-30 days after planting. The isolation of antagonistic bacteria resulted in 27 isolates of endophytic bacteria consisting of 9 isolates of fluorescent *Pseudomonad* group and 18 isolates of *Bacillus* sp., and 25 isolates of rhizospheric bacteria consisting of 8 isolates of fluorescent *Pseudomonad* group and 17 isolates of *Bacillus* sp. *Pseudomonas* on King's B medium was spherical, fluorescent under ultraviolet light, Gram-negative, rod-shaped, non-sporing, oxidase-positive, and catalase-positive. *Bacillus* sp. has round colonies, rod cell shape, form endospores, Gram-positive, catalase-positive, and oxidase-positive. A total of 11 isolates of endophytic bacteria and 12

rhizospheric bacteria had the potential to be developed as biological control agents because they could inhibit the growth of *R. solani* > 50% and cause disturbances to the fungal mycelia.

Key words: *Bacillus*, character, maize, *Pseudomonas*, sheath blight.

A. Pendahuluan

Rhizoctonia solani merupakan jamur tular tanah yang tersebar luas di berbagai kondisi ekologi di daerah tropis, sub tropis, ataupun sedang, serta menyebabkan berbagai jenis penyakit pada banyak spesies tanaman. *R. solani* menyebabkan busuk akar, hawar bibit, rebah semai, busuk batang, pembusukan buah dan biji, kerontokan, hawar daun, kanker batang, dan busuk tajuk pada berbagai tanaman (Tuncer & Eken, 2013; Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018a).

Pada tanaman jagung, *R. solani* dapat menyerang seluruh stadium tanaman jagung, mulai dari pembibitan hingga tanaman dewasa dan menyebabkan hawar pelepah dan upih daun, kanker batang, busuk akar, pembusukan biji atau tongkol, dan kematian tanaman (Chaudhary *et al.*, 2016; Sagar & Bhusal, 2019; Singh, *et al.*, 2019). Penyakit ini merupakan salah satu penyakit penting yang membatasi produksi jagung dunia (Zhang *et al.*, 2012), dengan menyebabkan kehilangan hasil 11-40 %, bahkan hingga 100 % pada beberapa kultivar rentan (Madhavi *et al.*, 2011, Izhar & Chakraborty, 2010; Sharma *et al.*, 2020).

Pengendalian penyakit tular tanah, termasuk penyakit hawar pelepah jagung menggunakan pestisida sintetis seringkali tidak efektif dan efisien, karena kemampuan patogen untuk membentuk struktur istirahat dan patogen telah tahan terhadap jenis fungisida sintetis yang selalu digunakan (Soesanto, 2009). Residu bahan kimia juga akan berdampak negatif terhadap kehidupan mikroba tanah dan membahayakan lingkungan (Riyaz *et al.*, 2021). Pengendalian menggunakan

varietas tahan terkendala dengan keragaman patogen *R. solani* yang tinggi dan terbatasnya sumber gen inang tahan (Madhavi *et al.* 2015; Sharma *et al.*, 2002)

Pengendalian hayati dengan bakteri antagonis, merupakan alternatif pengendalian yang aman, efektif, sesuai untuk kondisi di Indonesia dan berwawasan lingkungan, serta mendukung pertanian berkelanjutan sangat diperlukan. Bakteri antagonis dapat berkembang biak dan berinteraksi dengan tanaman dengan menghasilkan antibiotik dan zat-zat pengganggu pertumbuhan patogen, zat pengatur tumbuh, membantu kelarutan nutrisi, serta mengimbas ketahanan tanaman (Sharma *et al.*, 2013; Ahanger *et al.*, 2014; Ahemad & Kibret, 2014; Saeed *et al.*, 2021).

Dari kelompok bakteri antagonis, bakteri rizosfer dan bakteri endofit lebih banyak digunakan sebagai agensia pengendali hayati dibandingkan bakteri filosfer, karena daerah rizosfer kaya senyawa organik yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon dan energi (Ahemad & Kibret, 2014; Dong *et al.*, 2019). Bakteri yang berada pada perakaran, dapat mengkoloni perakaran, sehingga mampu bersaing dengan patogen untuk mendapatkan ruang dan nutrisi (Shanti & Vittal, 2013). Bakteri rizosfer juga mampu merangsang pertumbuhan tanaman, mengurangi insidensi penyakit dan membantu menyediakan nutrisi untuk pertumbuhan tanaman (Shanti & Vittal, 2013). Sementara itu, banyak bakteri endofit yang mampu melewati penghalang endodermis menyeberang dari korteks akar ke sistem berkas pembuluh dan selanjutnya berkembang sebagai endofit dalam batang, daun, umbi, dan organ lainnya (Compant *et al.*, 2005). Penggunaan bakteri endofit sebagai agensia hayati memiliki keuntungan dibandingkan dengan bakteri eksofit karena bakteri endofit hidup dan bertahan di dalam jaringan tanaman, sehingga menyediakan lingkungan

yang aman dan konsisten, tidak banyak terpengaruh kondisi lingkungan yang berfluktuatif (Afzal *et al.*, 2019).

Berdasarkan mekanisme yang mungkin terjadi serta peluang keberadaannya pada rizosfer pertanaman jagung, maka perlu dilakukan isolasi dan pengkarakteran bakteri rizosfer dan endofit. Penelitian bertujuan untuk mengisolasi serta mengkarakter secara morfologi dan biokimia bakteri rizosfer dan endofit tanaman jagung (khususnya *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar) baik di dataran rendah-menengah maupun tinggi, serta potensinya untuk mengendalikan *R. solani*, penyebab penyakit hawar dan upih daun jagung.

B. Materi dan Metode

Isolasi jamur *R. solani*

Jamur *R. solani* diisolasi dari tanaman jagung di Desa Karangwangkal, Kecamatan Sumbang, Kabupaten Banyumas yang menunjukkan gejala hawar pelepah serta terdapat sklerotium sebagai struktur tahan dari jamur patogen (Gambar 1). Isolasi jamur dilakukan dengan menumbuhkan jamur dari bagian tanaman sakit dan sklerotium pada medium PDA, sehingga diperoleh isolat murni *R. solani*. Sebelum ditumbuhkan, potongan bagian tanaman sakit disterilkan dengan larutan NaOCl (1%) selama 2 menit, dan dicuci dengan air suling steril untuk menghilangkan sisa NaOCl. Selanjutnya potongan tanaman tersebut dikeringkan menggunakan kertas saring dan dipindahkan ke cawan Petri yang berisi medium PDA (Al-Fadhal *et al.*, 2019; Manasikana *et al.*, 2021).



Gambar 1. Penyakit hawar pelepah dan upih jagung. Keterangan: a-b. Gejala penyakit pada tanaman; c-d. Sklerotium yang ditemukan di tongkol jagung.

Isolasi dan pengkarakteran bakteri antagonis rizosfer dan endofit

Pengambilan sampel untuk isolasi bakteri antagonis dilakukan di Kabupaten Banyumas dan Purbalingga, dengan metode *stratified purposive sampling* (Setiawan, 2005). Sampel diambil dari pertanaman jagung yang berumur 20-30 hari setelah tanam (hst). Menurut Cavaglieri *et al.*, (2009), tanaman jagung dengan umur 20-30 hst mempunyai jumlah populasi mikroba rizoplan dan endo-rizosfer (endofit akar) yang dapat dibiakkan berada dalam populasi tertinggi. Tanaman diambil dari 2 kelompok ketinggian tempat yaitu dataran rendah-sedang (0-500 m di atas permukaan laut), dan dataran tinggi (>500 m dpl) (Nuryanto *et al.*, 2014). Pada setiap kabupaten, untuk dataran rendah-sedang dipilih 2 kecamatan, dan dataran tinggi dipilih 1 kecamatan. Kabupaten Banyumas meliputi Kecamatan Baturanden (Desa Karangmangu), Kecamatan Sumbang (Desa Sumbang) dan Kecamatan Kembaran (Desa Kembaran), sedangkan untuk Kabupaten Purbalingga, meliputi Kecamatan Karangreja (Desa Kutabawa), Kecamatan Bojongsari (Desa Kutasari) dan Kecamatan Padamara (Desa Padamara).

Bakteri endofit diisolasi dari akar dan batang tanaman jagung sehat dan tumbuh subur. Penyiapan sampel dilakukan dengan mencuci akar dan batang sampel, mensterilkan permukaan dengan alkohol 70 % (1 menit), 20 % clorok (5 menit) dan

larutan thiosulfat Ringer (5 menit), dan dibilas dengan air steril sebanyak 3 kali. Secara terpisah, akar dan batang masing-masing seberat 10 g dihancurkan dengan 90 ml phosphat buffer saline (PBS) pada mortar steril (Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006). Selanjutnya sampel tersebut ditumbuhkan pada medium Kings B, untuk mengisolasi *Pseudomonas* kelompok pendar. Koloni yang berpendar (fluoresensi) di bawah lampu UV pada panjang gelombang 365 nm dipilih dan dimurnikan (Cavaglieri *et al.*, 2009). Isolasi *Bacillus* sp. dilakukan pada medium NA, namun sebelumnya suspensi sampel dipanaskan selama 10 menit pada suhu 80 °C (Campanini *et al.*, 2012).

Isolasi bakteri rizosfer dilakukan dari sampel tanah rizosfer jagung dari setiap lokasi pengambilan sampel. Penyiapan sampel untuk isolasi bakteri rizosfer jagung dari setiap lokasi dilakukan dengan metode Chen *et al.* (2013). Tanah rizosfer jagung sebanyak 3 g disuspensikan dalam 27 ml larutan NaCl 0,85 %, dikocok perlahan selama 15 menit, dan kemudian dibiarkan mengendap. Selanjutnya sampel tersebut ditumbuhkan pada medium Kings B dan NA, seperti pada saat isolasi bakteri endofit. Bakteri rizosefer maupun endofit hasil isolasi, selanjutnya dimurnikan dan dikarakter lebih lanjut, seperti karakter morfologi koloni (meliputi bentuk, ukuran dan warna koloni), reaksi Gram (KOH test), uji katalase, dan uji oksidase. Pengujian reaksi Gram dilakukan dengan KOH 3 %, reaksi Gram negatif ditunjukkan adanya benang lendir pada campuran bakteri dan KOH 3% (Islam *et al.*, 2016). Pengujian katalase dilakukan menurut Farooq & Bano (2013), dengan cara menambahkan biakan bakteri pada satu tetes H₂O₂ (30%) di gelas benda dan adanya gelembung udara menunjukkan adanya enzim katalase. Pengujian oksidase dilakukan pada kertas Whatman No.1 yang telah ditetaskan 1 % larutan tetramethyl paraphenyliene

diamine dihydrochloride, dan diletakkan 1 lup biakan bakteri. Perubahan warna kertas menjadi ungu menunjukkan hasil yang positif (Departemen Pertanian, 2008).

Uji antagonisme bakteri antagonis terhadap jamur *R. solani*

Pengujian antagonisme antara bakteri antagonis rizosfer dan endofit dengan jamur *R. solani* dilakukan dengan metode *dual culture* (Buana *et al.*, 2011). Pada pengujian ini dilakukan pengukuran daya hambat pertumbuhan jamur dan berat kering miselium. Daya hambat pertumbuhan jamur dapat dihitung menggunakan rumus (Abidin *et al.*, 2015).

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

I = Tingkat penghambatan antagonis (%)

C = Jari-jari koloni patogen yang berlawanan dengan pusat koloni antagonis

T = Jari-jari koloni patogen yang menuju pusat koloni antagonis

Pengukuran berat kering miselium dilakukan dengan metode Martinius *et al.* (2010) dan Sulistyaningtyas & Supriyadi (2017). Pada akhir pengamatan, setiap cawan petri yang ditumbuhi miselium jamur ditambahkan dengan 10 ml HCl 1 % dan dipanaskan di atas penangas air dengan suhu 80 °C, untuk melarutkan agar. Selanjutnya disaring dengan menggunakan kertas Whatman dan dibilas dengan air untuk menghilangkan sisa HCl. Miselium ditiriskan selama 10 menit, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 60 °C selama 2 hari. Berat kering miselium merupakan selisih berat kering miselium dalam kertas saring dengan berat kertas saring awal.

Analisis Data

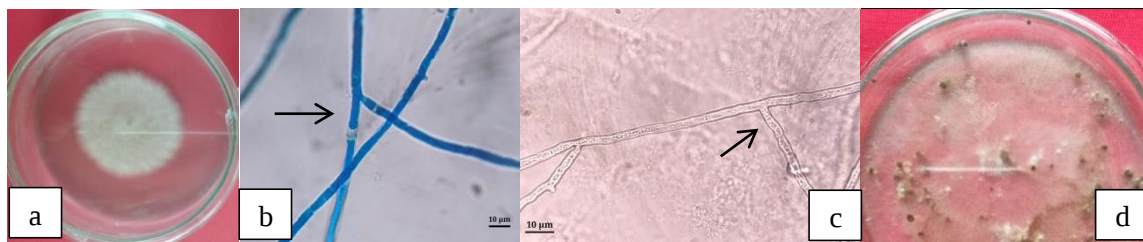
Data hasil isolasi, karakter, dan uji daya hambat bakteri antagonis dianalisis secara deskriptif.

C. Hasil dan Pembahasan

Eksplorasi dan isolasi jamur *R. solani*

Hifa jamur *R. solani* mulai tumbuh pada medium PDA pada umur 2 hari setelah inokulasi (hsi), dan pada umur 4-5 hari sudah memenuhi cawan Petri. Setelah biakan berumur 10-15 hari, jamur mulai membentuk sklerotium. Selanjutnya berdasarkan miselium dan sklerotium yang terbentuk dilakukan identifikasi. Menurut Shroff (2016), *R. solani* umumnya hanya diidentifikasi berdasarkan karakter miselium dan sklerotium karena tidak memiliki konidium.

Berdasarkan hasil eksplorasi dan isolasi jamur penyebab penyakit hawar pelepah jagung, diperoleh isolat jamur dengan miselium seperti serabut dan berwarna putih pada saat masih muda, dan menjadi kecokelatan setelah tua. Pengamatan menggunakan mikroskop menunjukkan hifa jamur bersekat, mempunyai percabangan dengan sudut antara $40-50^{\circ}$ ketika miselium masih muda, dan percabangan tegak lurus atau hampir membentuk sudut 90° ketika miselium dewasa (Gambar 2). Hasil tersebut sesuai dengan Chaudhary *et al.* (2016), Shroff (2016), serta Sagar & Bhusal (2019) bahwa pada medium PDA jamur *R. solani* tumbuh cepat, dengan koloni muda jamur *R. solani* berwarna putih seperti sutra, dan ketika tua menunjukkan warna kecokelatan. Warna kecokelatan dilaporkan sebagai karakter pembeda dari jamur ini. Diameter hifa berukuran 5-14 μm . Kajian mikroskopis jamur menunjukkan bahwa hifa jamur berinti banyak, adanya septum di cabang dekat titik asal, adanya septum dolipori, dan tidak membentuk konidium. Penyempitan hifa cabang pada titik asal dan pembentukan septum dengan sudut siku-siku tampaknya merupakan karakter khas dari *R. solani*.



Gambar 2. Jamur *Rhizoctonia solani*. Keterangan: a. koloni jamur; b-c hifa dan percabangan hifa; d. sklerotium dalam medium biakan (Sumber: dokumentasi penelitian).

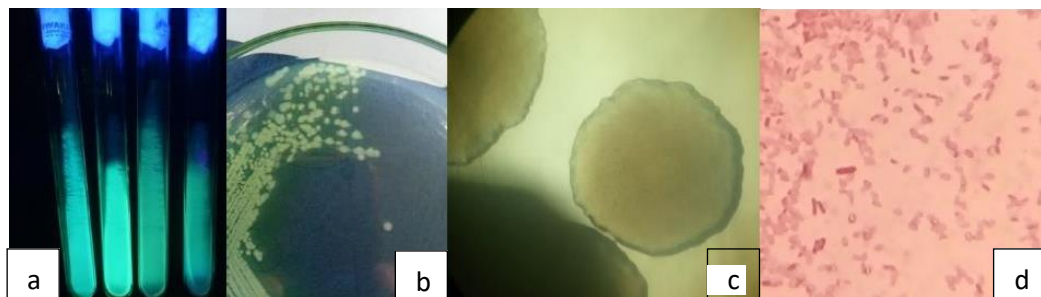
Sklerotium yang merupakan struktur tahan jamur, mulai terbentuk pada biakan saat berumur 10-15 hsi, ketika kondisi lingkungan dan nutrisi tidak menguntungkan. Sklerotium jamur awalnya berwarna putih, bulat dan kemudian berubah menjadi tidak beraturan, dengan warna cokelat sampai hitam (Gambar 2). Sklerotium diproduksi berlimpah dalam biakan jamur. Menurut Sumartini (2011), Chaudhary *et al.* (2016) dan Shroff (2016), sklerotium jamur *R. solani* keras, sehingga tahan terhadap keadaan lingkungan yang tidak menguntungkan, terutama kekeringan dan suhu tinggi. Sklerotium terbentuk dari hifa yang mengalami penggumpalan membentuk massa yang kompak. Sklerotium awalnya berwarna putih dan berubah menjadi cokelat sampai hitam setelah dewasa, berbentuk bulat, agak bulat, agak pipih, atau tidak beraturan, dengan ukuran beragam bergantung pada isolatnya, biasanya berdiameter 1-5 mm. Sklerotium *R. solani* dapat bertahan selama beberapa tahun di tanah, dan merupakan sumber inokulum primer di lahan. Ketika kondisi lingkungan mendukung bagi pertumbuhannya maka sklerotium akan berkecambah dan dapat menginfeksi tanaman inang yang ada (Sumartini, 2012).

Eksplorasi, isolasi dan pengkarakteran bakteri antagonis rizosfer dan endofit

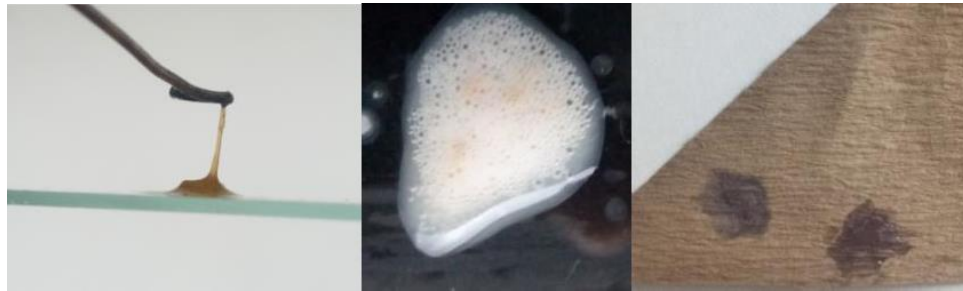
Hasil dari kegiatan ekplorasi, isolasi dan pengkarakteran bakteri antagonis di berbagai tempat dan ketinggian tempat diperoleh 52 isolat bakteri antagonis, terdiri atas bakteri rizosfer 25 isolat dan bakteri endofit 27 isolat. Dari 27 isolat bakteri

endofit terdiri atas 9 *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dan 18 isolat bakteri *Bacillus* sp. Bakteri rizosfer terdiri atas 8 *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dan 17 isolat bakteri *Bacillus* sp. (Tabel 3 dan 4).

Koloni bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar baik asal rizosfer ataupun endofit, pada medium King's B berbentuk bulat, dengan tepi rata, dan memiliki warna kuning kehijauan. Hasil uji Gram dengan KOH 3 % menunjukkan bakteri Gram negatif. Bakteri berbentuk batang, tidak berspora dan berpendar pada medium Kings B di bawah lampu ultraviolet. Bakteri juga menghasilkan enzim oksidase dan katalase (Tabel 3, Gambar 3). Hasil ini sejalan dengan Arwiyanto *et al.* (2007) dan Yusriadi (2011), bakteri *P. fluorescens* mempunyai koloni berbentuk bulat, tepi rata, fluidal, dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Secara individu bakteri berbentuk batang dengan ukuran $(0,5-1,0) - (1,5-4,0) \mu\text{m}$. Isolat bakteri *P. fluorescens* bersifat Gram negatif, yaitu dapat membentuk enzim katalase, oksidase positif, yang diperlukan untuk tumbuh aerob (Gambar 4) (Wahyudi *et al.*, 2011).

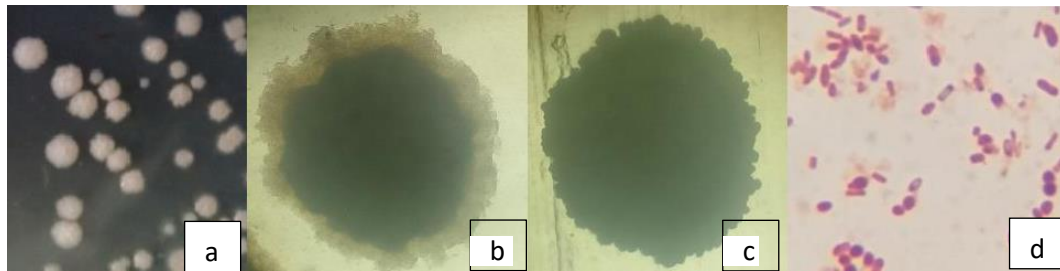


Gambar 3. Bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar. Keterangan: a. koloni bakteri pada medium King's B dan di bawah sinar UV; b-c koloni bakteri pada medium King's B; d. morfologi sel bakteri.



Gambar 4. Pengujian biokimia bakteri antagonis. Keterangan: a. Pengujian Gram dengan KOH 3 %, dengan hasil Gram negatif; b. Pengujian katalase positif; c. Pengujian oksidase.

Bakteri *Bacillus* sp. mempunyai bentuk koloni bulat, bentuk sel batang, termasuk dalam kelompok bakteri gram positif, dan adanya endospora dalam sel (Gambar 5). Bakteri ini juga mampu menghasilkan enzim katalase dan oksidase. Menurut Logan & De Vos (2009) dan Lu *et al.* (2018), genus *Bacillus* mempunyai kisaran morfologi koloni yang sangat luas, baik di dalam maupun antar-spesies. Jenis medium dan lamanya masa inkubasi juga mempunyai pengaruh yang kuat terhadap bentuk koloni. Pada medium NA, LB-agar dan NA, koloni bakteri berwarna putih kelabu, *opaque*, datar, kering dan berukuran sedang. *Bacillus* sp. memiliki ciri-ciri koloni bulat hingga tidak beraturan, puctifoam (bulat kecil) hingga berukuran besar (diameter 2-7 mm), tepi entire (halus) hingga lobate (berombak atau bergerigi), berwarna putih kusam, tidak berlendir, Gram positif, memiliki endospora, berflagelum dan sebagian bersifat motil (dapat bergerak). Sel *Bacillus* berbentuk bulat dengan ujung membulat, dapat terbentuk secara tunggal atau berpasangan dalam suatu rantai. Lebih lanjut Slepecky & Hemphill (2006) menjelaskan bahwa adanya endospora berbentuk bulat, lonjong atau silindris merupakan struktur yang khas dari genus *Bacillus*. *Bacillus* dilaporkan mampu menghasilkan enzim katalase, dan sebagian *Bacillus* mampu menghasilkan enzim oksidase (Jurtshuk & Liu, 1983; Tariq *et al.*, 2016).



Gambar 5. Bakteri *Bacillus* sp. Keterangan: a-c. koloni bakteri pada medium NA; d. morfologi sel dan endospora bakteri.

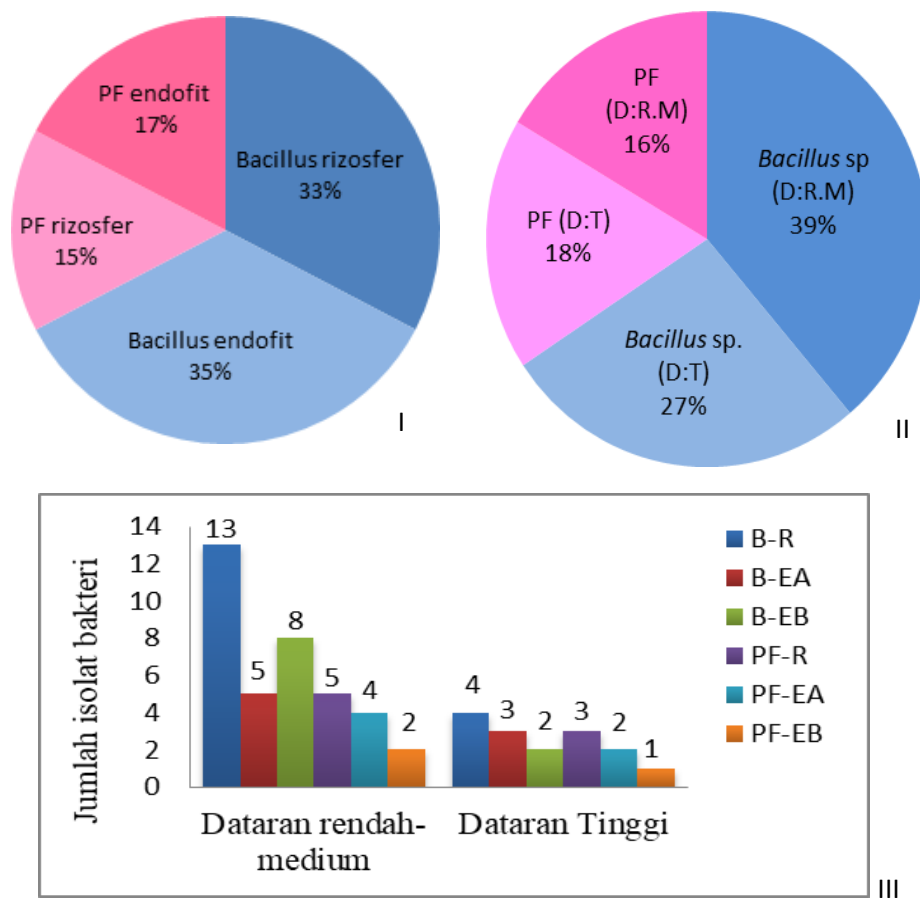
Pada semua lokasi pengambilan sampel, yaitu di 2 kabupaten dan 2 kelompok ketinggian tempat, berhasil diisolasi bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp. (Tabel 4 dan 5). Hal ini menunjukkan bahwa kedua jenis bakteri tersebut menyebar dan mampu hidup di berbagai ketinggian tempat, baik dataran tinggi ataupun rendah, sebagai mikroba rizosfer ataupun endofit. Menurut Bacon & Hinton (2002); Ganeshan & Kumar (2005); Slepecky & Hemphill (2006); Zeigler & Perkins (2008); Orole & Adejumo (2011) dan Costa *et al.* (2013), *P. fluorescens* dan *Bacillus* sp. merupakan spesies bakteri dengan rentang kehidupan yang luas dan sangat adaptif di berbagai lingkungan. Kedua jenis bakteri tersebut juga terdapat dan dapat diisolasi dari rizosfer dan endofit akar atau batang jagung.

Tabel 4. Karakter bakteri hasil isolasi dari rizosfer tanaman jagung

Dataran	Lokasi pengambilan sampel	Jenis sampel	No Isolat	Uji Gram	Uji Katalase	Uji oksidase	Bentuk koloni	Warna koloni	Berpendar pada Medium KB	Bentuk sel	Nama isolat
Dataran tinggi	Purbalingga, Karangreja 7.13'33" LS, 109.17'21" BT, TT 1.190 m dpl	tanah rizosfer	8	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar PK R2</i>
	Banyumas, Baturaden 7.19'1" LS, 109.14'29" BT TT 520 m dpl	tanah rizosfer	1	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar BB R1</i>
			2	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar BB R3</i>
			18	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BB R1</i>
			19	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BB R2</i>
			20	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BB R3</i>
			21	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BB R5</i>
Dataran rendah-medium	Banyumas, Kembaran 7.23'47" LS, 109.17'9" BT TT 110 m dpl	tanah rizosfer	4	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar BK R2</i>
			7	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar BK R1</i>
			28	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R1</i>
			29	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R2</i>
			30	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R5</i>
			31	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R6</i>
			32	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R7</i>
			33	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R8</i>
	Banyumas, Sumbang 7.21'54" LS, 109.17'33" BT TT 200 m dpl	tanah rizosfer	34	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BK R9</i>
			3	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar BS R1</i>
			22	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BS R1</i>
			23	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BS R2</i>
			24	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. BS R3</i>
	Purbalingga, Padamara 7.22'28" LS, 109.13'24" BT TT 180 m dpl	tanah rizosfer	5	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar PPD R1</i>
			6	-	+	v	bulat	kuning kehijauan	+	batang	<i>P. kel. pendar PPD R2</i>
			27	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. PPD R1</i>
	Purbalingga, Bojongsari, 7.20'12" LS, 109.20'22" BT, TT 190 m dpl	tanah rizosfer	25	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. PB R1</i>
			26	+	+	v	bulat	putih	-	batang	<i>Bacillus sp. PB R2</i>

Tabel 5. Karakter bakteri endofit hasil isolasi dari tanaman jagung

Dataran	Lokasi pengambilan sampel	Jenis sampel	No. Isolat	Uji Gram	Uji Katalase	uji oksidase	Bentuk koloni	Warna koloni	Berpendar pada Medium KB	Bentuk sel	Nama isolat
Dataran Tinggi	Purbalingga, Karangreja 7.13'33" LS, 109.17'21" BT, TT 1.190 m dp	akar	9	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar PK A1</i>
		akar	50	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. PK A1
		akar	52	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. PK A5
		batang	17	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar PK B4</i>
	Banyumas, Baturaden 7.19'1" LS, 109.14'29" BT, TT 520 m dpl	akar	14	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar BB A2</i>
		akar	53	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BB A3
		batang	41	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. BB B4
		batang	57	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. BB B3
Dataran Rendah-medium	Banyumas, Sumbang 7.21'54" LS, 109.17'33" BT, TT 200 m dpl	akar	11	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar BS A2</i>
		akar	43	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. BS A2
		akar	44	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BS A3
		batang	36	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BS B2
	Purbalingga, Bojongsari, 7.20'12" LS, 109.20'22" BT, TT 190 m dpl	akar	10	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang pendek	<i>P. kel. pendar PB A4</i>
		batang	39	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. PB B1
		batang	56	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. PB B3
	Purbalingga, Padamara, 7.22'28" LS, 109.13'24" BT, TT 180 m dpl	akar	45	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. PPD A1
		akar	12	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang pendek	<i>P. kel. pendar PPD A1</i>
		batang	15	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar PPD B1</i>
		batang	16	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar PPD B5</i>
		batang	37	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. PPD B2
		batang	38	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. PPD B4
		akar	13	-	+	+	bulat	kuning kehijauan	+	batang panjang	<i>P. kel. pendar BK A 1</i>
	Banyumas, Kembaran 7.23'47" LS, 109.17'9" BT, TT 110 m dpl	akar	47	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BK A1
		akar	49	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. BK A3
		batang	54	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BK B1
		batang	55	+	+	+	bulat	putih	-	batang pendek	<i>Bacillus</i> sp. BK B2
		batang	40	+	+	+	bulat	putih	-	batang panjang	<i>Bacillus</i> sp. BK B3



Gambar 6. Keragaman jenis bakteri antagonis hasil isolasi. Keterangan: I = Berdasarkan jenis bakteri; II = Berdasarkan ketinggian tempat pada setiap lokasi pengambilan sampel; III = Berdasarkan ketinggian tempat. Keterangan: B: *Bacillus* sp., PF = *Pseudomonas* kelompok pendar, R= rizosfer; EA=endofit akar; EB=endofit batang, D:R.M = dataran rendah-medium; D:T = dataran tinggi.

Berdasarkan keragaman jenis bakteri hasil isolasi, jenis bakteri *Bacillus* sp. baik rizosfer dan endofit lebih mendominasi dibanding jenis *Pseudomonas* kelompok pendar. *Bacillus* sp. mencapai 68 % dari total bakteri yang berhasil diisolasi, sedangkan *Pseudomonas* kelompok pendar hanya mencapai 32 % (Gambar 6.I.). Diduga hal ini berkaitan dengan kemampuan hidup *Bacillus* sp. yang lebih baik dan lebih adaptif dibandingkan dengan *Pseudomonas*. *Bacillus* sp. dilaporkan mampu membentuk endospora sebagai struktur tahan (Slepecky & Hemphill, 2006). Selanjutnya, apabila dibandingkan dari jenis bakteri rizosfer dan bakteri endofit,

keduanya relatif seimbang, masing-masing di kisaran angka 50 % (bakteri rizosfer 48 % dan bakteri endofit 52 %). Hal ini menunjukkan kedua jenis bakteri tersebut (*Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar) dapat hidup di rizosfer dan sebagai endofit (Orole & Adejumo, 2011; Gheler Costa *et al.*, 2013).

Berdasarkan ketinggian tempat, jumlah bakteri antagonis (*Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar) yang berhasil diisolasi dari dataran rendah lebih banyak (37) dibanding dengan dataran tinggi (15 isolat) (Gambar 6.III). Hal ini disebabkan jumlah sampel di dataran rendah-medium juga dua kali lebih banyak, dengan pertimbangan bahwa tanaman jagung lebih banyak ditanam di dataran rendah hingga medium, dibandingkan dengan dataran tinggi. Namun demikian, apabila dilihat dari persentase banyaknya isolat bakteri di setiap lokasi pengambilan sampel, *Pseudomonas* kelompok pendar berhasil diisolasi dari dataran rendah-menengah dan tinggi dengan jumlah yang relatif seimbang (16-18%). Sementara itu, *Bacillus* sp. lebih banyak diisolasi di dataran rendah (39 %) dibandingkan di dataran tinggi (27 %) (Gambar 6.II). Hal ini diduga berkaitan dengan faktor lingkungan yang berpengaruh terhadap kemampuan hidup bakteri. Menurut Korsten & Cook (1996), suhu optimum untuk pertumbuhan *Bacillus subtilis* adalah 30-37 °C, sedangkan suhu optimum untuk *P. fluorescens* adalah 25-30 °C (Donnarumma *et al.*, 2010; Aa *et al.*, 2019). Berdasarkan ketinggian tempat lokasi pengambilan sampel, suhu rata-rata berdasarkan perhitungan rumus Braak yang dimodifikasi Purwantara (2015), untuk Kecamatan Karangreja sebesar 21,36 C; Baturaden 25,34 C; Kembaran 27,84 C; Sumbang 27,3 C; Padamara 27,42 C dan Bojongsari 27,36 C.

Uji antagonisme bakteri antagonis terhadap jamur *R. solani*

Berdasarkan hasil pengujian *in vitro* (Tabel 6 dan 7), sebanyak 100 % isolat bakteri rizosfer dan 96,2 % isolat bakteri endofit mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani*, dibandingkan kontrol. Bakteri rizosfer dan endofit yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *R solani* ditunjukkan dengan adanya zona hambat di sekitar koloni bakteri, dan miselium jamur tidak mampu tumbuh mendekati koloni bakteri (Gambar 7). Penghambatan pertumbuhan miselium jamur menyebabkan bobot kering miselium jamur pada perlakuan bakteri antagonis lebih rendah dibandingkan kontrol. Besarnya persentase penghambatan jamur sejalan dengan besarnya penurunan bobot kering jamur (Tabel 6 dan 7). Hasil ini menunjukkan bakteri antagonis tersebut mampu menghasilkan senyawa yang menghambat pertumbuhan jamur baik melalui mekanisme antibiosis, persaingan, maupun lisis.

Menurut Hastuti *et al.* (2014), bakteri mampu menghasilkan metabolit sekunder yang dapat menghambat pertumbuhan atau merusak patogen. Senyawa tersebut antara lain alkaloid, fenol, flavonoid, glikosida, dan fitoaleksin (Soesanto *et al.*, 2010). *P. fluorescens* dapat menghasilkan berbagai jenis antibiotika termasuk asam *phenazine-1-carboxylic*, *pyocyanin*, *pyrrolnitrin*, dan *pyoluteorin*, *2,4-diacetylphloroglucinol (Phl)*. *Phl* merupakan metabolit fenol yang bersifat antibakteri dan antijamur (Jain & Das, 2016). Spesies *Bacillus* sp. dapat menghasilkan berbagai senyawa mudah menguap dan berdifusi dengan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap patogen tanaman (Lim *et al.*, 2017). Sebanyak 169 metabolit sekunder dilaporkan dihasilkan oleh genus *Bacillus* sp. Berbagai strain *B. subtilis* dilaporkan mampu menghasilkan 68 antibiotika, sedangkan *B. brevis* dapat

menghasilkan 23 jenis antibiotika. Sebagian besar merupakan antibiotika golongan peptida, dan beberapa yang lain antibiotika golongan butirosin dan protosin.

Tabel 6. Daya hambat bakteri endofit terhadap *R. solani*

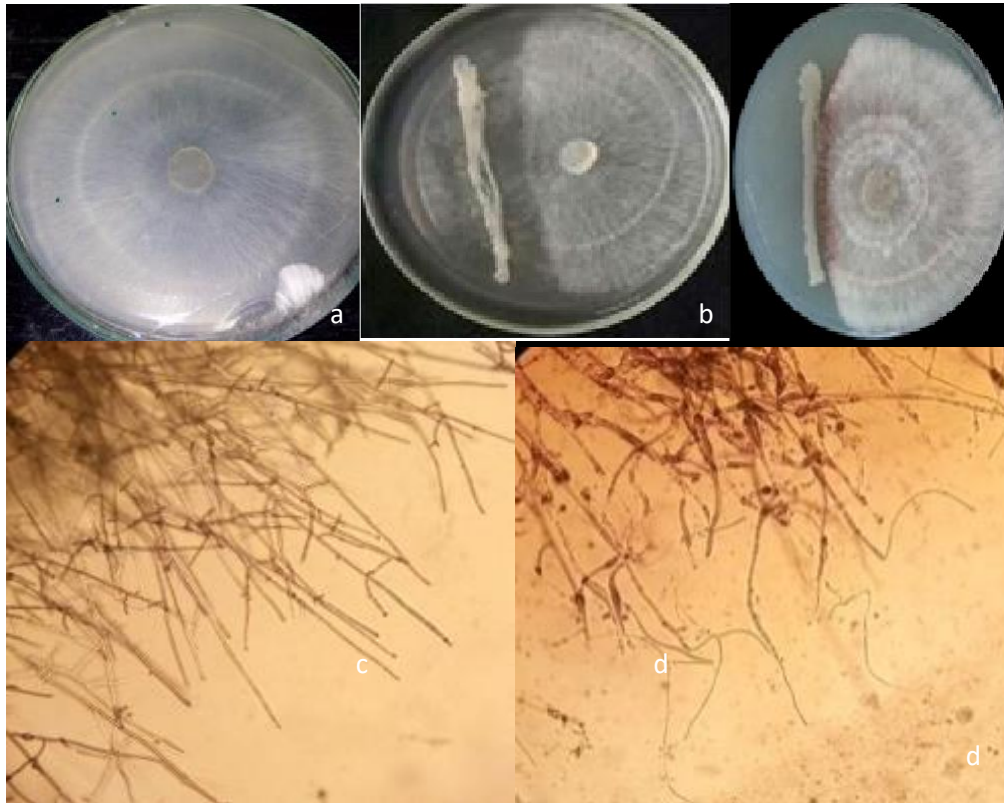
No isolat	Nama isolat	Tingkat penghambatan (%)	Bobot kering miselium (g)
1	Kontrol	0	0,093
Bakteri Endofit Akar			
9	<i>P. kel. pendar</i> PK.A1	38,33	0,017
10	<i>P. kel. pendar</i> PB.A4	18,00	0,037
11	<i>P. kel. pendar</i> BS.A 2	45,00	0,027
12	<i>P. kel. pendar</i> BK.A1	51,00	0,012
13	<i>P. kel. pendar</i> PPD.A1	10,33	0,059
14	<i>P. kel. pendar</i> BB.A2	49,00	0,038
44	<i>Bacillus</i> sp. BSA3	37,42	0,039
47	<i>Bacillus</i> sp. BK A.1	55,39	0,002
49	<i>Bacillus</i> sp. BK.A3	51,52	0,003
52	<i>Bacillus</i> sp. BB.A3	40,42	0,030
53	<i>Bacillus</i> sp. PK.A5	50,66	0,009
43	<i>Bacillus</i> sp. BS A2	45,44	0,026
45	<i>Bacillus</i> sp. PPD A1	0	0,094
50	<i>Bacillus</i> sp. PK A1	46,65	0,029
Bakteri Endofit Batang			
15	<i>P. kel. pendar</i> PPD.B1	27,00	0,020
16	<i>P. kel. pendar</i> PPD.B5	59,33	0,013
17	<i>P. kel. pendar</i> PK.B4	55,67	0,004
36	<i>Bacillus</i> sp. BS B2	51,52	0,007
37	<i>Bacillus</i> sp. PPD.B2	50,80	0,007
38	<i>Bacillus</i> sp. PPD.B4	39,44	0,036
39	<i>Bacillus</i> sp. PB.B1	37,29	0,047
40	<i>Bacillus</i> sp. BK. B3	40,36	0,031
41	<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	68,20	0,005
54	<i>Bacillus</i> sp. BK B1	74,60	0,005
55	<i>Bacillus</i> sp. BK B2	42,80	0,034
56	<i>Bacillus</i> sp. PB.B3	49,90	0,022
57	<i>Bacillus</i> sp. BB B3	50,73	0,016

Keterangan: *P*= *Pseudomonas*; PK= Purbalingga Karangreja, PB= Purbalingga Bojongsari; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BS= Banyumas Sumbang; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang.

Tabel 7. Daya hambat bakteri rizosfer terhadap *R. solani*

No isolat	Nama isolat	Tingkat penghambatan (%)	Bobot kering miselium (g)
1	Kontrol	0	0,093
Bakteri Rizosfer			
1	<i>P. kel. pendar</i> BB R1	54,67	0,006
2	<i>P. kel. pendar</i> BB R3	49,63	0,013
3	<i>P. kel. pendar</i> BS R1	24,40	0,058
4	<i>P. kel. pendar</i> BK R2	50,00	0,012
5	<i>P. kel. pendar</i> PPD R1	38,60	0,038
6	<i>P. kel. pendar</i> PPD R2	50,39	0,023
7	<i>P. kel. pendar</i> BK R1	34,68	0,058
8	<i>P. kel. pendar</i> PK R2	14,20	0,082
18	<i>Bacillus</i> sp. BB R1	30,23	0,062
19	<i>Bacillus</i> sp. BB R2	42,54	0,032
20	<i>Bacillus</i> sp. BB R3	69,92	0,007
21	<i>Bacillus</i> sp. BB R5	56,93	0,006
22	<i>Bacillus</i> sp. BS R1	50,20	0,013
23	<i>Bacillus</i> sp. BS R2	50,00	0,014
24	<i>Bacillus</i> sp. BS R3	42,28	0,036
25	<i>Bacillus</i> sp. PB R1	34,60	0,056
26	<i>Bacillus</i> sp. PB R2	38,20	0,054
27	<i>Bacillus</i> sp. PPD R1	42,68	0,038
28	<i>Bacillus</i> sp. BK R1	46,24	0,032
29	<i>Bacillus</i> sp. BK R2	49,74	0,020
30	<i>Bacillus</i> sp. BK R5	68,10	0,008
31	<i>Bacillus</i> sp. BK R6	62,50	0,011
32	<i>Bacillus</i> sp. BK R7	56,56	0,052
33	<i>Bacillus</i> sp. BK R8	50,00	0,016
34	<i>Bacillus</i> sp. BK R9	57,10	0,014

Keterangan: *P*= *Pseudomonas*; PK= Purbalingga Karangreja, PB= Purbalingga Bojongsari; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BS= Banyumas Sumbang; BK= Banyumas Kembaran; R= rizosfer.



Gambar 7. Uji antagonisme antara bakteri antagonis dan *R. solani*. Keterangan: a-b. miselium jamur kontrol; c-e. miselium jamur pada perlakuan bakteri antagonis.

Berdasarkan hasil pengamatan pada miselium di daerah zona hambat, nampak miselium jamur *R. solani* mengalami degradasi (Gambar 7). Rusak atau lisisnya miselium diduga juga dipengaruhi oleh enzim hidrolisis yang dihasilkan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Menurut Pal & McSpadden Gardener (2006), beberapa bakteri antagonis juga menghasilkan enzim hidrolisis, yang akan berpengaruh pada aktivitas hiperparasit. Hiperparasit melibatkan pertumbuhan agensia pengendali hayati pada organisme target, dan menyebabkan rusaknya sel patogen sasaran. Beberapa mikroba termasuk *Bacillus* dan *Pseudomonas* menghasilkan sejumlah enzim yang berpengaruh terhadap rusaknya dinding patogen (Pal & Mc Spadden Gardener, 2006; Heydari & Pessarakli, 2010; Junaid *et al.*, 2013).

Berdasarkan tingkat penghambatannya, bakteri antagonis mempunyai tingkat penghambatan yang beragam. Perbedaan penghambatan ini berkaitan dengan kemampuan bakteri antagonis dalam menghasilkan senyawa penghambat jamur baik antibiotika, enzim ataupun senyawa beracun lainnya juga beragam. Menurut Rahmah *et al.* (2017), kemampuan suatu agensia pengendali hayati (APH) dalam menghambat mikroba lain bergantung pada konsentrasi bahan dan jenis antimikroba yang dihasilkan. Semakin tinggi konsentrasi bahan antimikroba tersebut, maka semakin besar pula kemampuannya untuk menghambat patogen, sehingga zona bening atau zona hambat yang terbentuk semakin luas.

Bakteri antagonis dengan tingkat penghambatan $\geq 50\%$, berpotensi untuk dikembangkan sebagai suatu APH. Hal ini sesuai dengan persyaratan uji mutu suatu APH yang ditetapkan Direktorat Perlindungan Perkebunan (2014), bahwa APH harus memenuhi salah satu parameter antagonisme, yaitu antibiosis, parasitisme atau penghambatan $\geq 50\%$. Bakteri endofit yang mempunyai tingkat penghambatan $\geq 50\%$ ada 11 isolat, yaitu *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* isolat BK.A1, PPD.B5, PK.B4; dan *Bacillus* sp. BK.A1, BK.A3, PK.A5, BS.B2, PPD.B2, BB.B4, BK.B1, BB.B3. Dari kelompok bakteri rizosfer yang mempunyai tingkat penghambatan $\geq 50\%$ terdapat 12 isolat, meliputi *Pseudomonas* kelompok pendar 3 isolat yaitu BB-R1, BK-R2, PPD-R2; dan *Bacillus* sp. sebanyak 9 isolat yaitu BB.R3, BB.R5, BS.R1, BS.R2, BK.R5, BK.R6, BK.R7, BK.R8 dan BK.R9. Apabila dibandingkan dengan jumlah bakteri yang diuji pada setiap kelompok bakteri, persentase bakteri rizosfer yang mampu menghambat $\geq 50\%$ mencapai 48,00 % bakteri endofit 40,74 %, bakteri asal dataran rendah-medium 43 %, bakteri asal dataran tinggi 46 %, bakteri dari genus *Bacillus* sp. 48 %, dan bakteri dari *Pseudomonas* kelompok pendar 35 %.

Berdasarkan data tersebut, kemampuan bakteri *Bacillus* sp. cenderung lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *R. solani* dibanding dengan *Pseudomonas* kelompok pendar. Hal ini diduga berkaitan dengan berbagai mekanisme yang dimiliki oleh *Bacillus* sp. (Cawoy et al., 2011). Sementara untuk bakteri rizosfer dan endofit, serta bakteri asal dataran rendah-menengah dan asal dataran tinggi, meskipun terdapat perbedaan persentase, namun tidak cukup besar.

D. Simpulan

1. *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar berhasil diisolasi dari rizosfer dan endofit tanaman jagung, baik di dataran rendah-menengah maupun dataran tinggi.
2. Hasil isolasi bakteri antagonis diperoleh 25 isolat bakteri rizosfer terdiri dari 8 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar dan 17 isolat bakteri *Bacillus* sp.; serta 27 isolat bakteri endofit, 9 isolat termasuk bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar dan 18 isolat bakteri *Bacillus* sp.
3. Sejumlah 12 bakteri rizosfer dan 11 isolat bakteri endofit berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia pengendali hayati, karena mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani* ≥ 50 %, dan mampu menyebabkan gangguan pada miselium jamur.

III. MEKANISME BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT SEBAGAI PENGENDALI HAYATI DAN PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN

Intisari

Penelitian bertujuan untuk mengetahui mekanisme bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit sebagai agensia pengendali hayati jamur *Rhizoctonia solani* dan pemacu pertumbuhan tanaman jagung. Penelitian meliputi pengujian aktivitas bakteri antagonis meliputi enzim protease, lipase, kitinase, pektinase, selulose, pelarut fosfat, siderofor, HCN, dan IAA; serta pengujian kemampuan bakteri antagonis dalam memacu perkecambahan benih jagung. Bakteri antagonis rizosfer dan endofit yang diuji mampu menghasilkan senyawa metabolit yang mampu menghambat jamur patogen seperti, enzim hidrolisis (protease, lipase, selulase, kitinase), siderofor, HCN; serta senyawa pemacu pertumbuhan tanaman, seperti enzim pelarut fosfat dan hormon IAA, dengan kemampuan yang beragam. Berdasarkan senyawa metabolit yang dihasilkan, *Bacillus* sp. lebih berpotensi dalam penghambat pertumbuhan patogen, dan *Pseudomonas* kelompok pendar lebih berpotensi dalam memacu pertumbuhan tanaman. Bakteri antagonis rizosfer dan endofit hasil isolasi berpotensi meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung, dengan mampu meningkatkan panjang akar, bobot akar, dan panjang tunas dari perkecambahan jagung.

Kata kunci: protease, kitinase, selulase, lipase, siderofor, HCN, IAA, pelarut fosfat

Abstract

This study was aimed to determine the mechanism of antagonistic bacteria from the rhizospheric and endophytic as biological control agents for the fungus *Rhizoctonia solani* and promoter of maize growth. The research included testing the activity of antagonistic bacteria, including protease, lipase, chitinase, pectinase, cellulose, phosphate solubilizing enzymes, siderophores, HCN, and IAA; as well as the ability of antagonistic bacteria to stimulate maize seed germination. The tested rhizospheric and endophytic antagonist bacteria could produce metabolites that inhibit pathogenic fungi such as hydrolytic enzymes (proteases, lipases, cellulases, chitinases), siderophores, HCN; and plant growth-promoting compounds such as phosphate-solubilizing enzymes and IAA hormones, with varying abilities. Based on the metabolites produced, *Bacillus* sp. had more potential in inhibiting the growth of pathogens, and fluorescent *Pseudomonad* had more potential in stimulating plant growth. The rhizospheric and endophytic antagonist bacteria could increase the growth of maize by increasing root length, root weight, and shoot length from maize germination.

Keywords: protease, chitinase, cellulase, lipase, siderophore, HCN, IAA, phosphate solubilization

A. Pendahuluan

Bacillus sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar merupakan genus bakteri antagonis yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati penyakit tular-tanah dan tular-udara. Bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit tanaman dapat melalui beberapa mekanisme pengendalian, di antaranya persaingan, hiperparasit, kemampuan menghasilkan senyawa penghambat mikroba (senyawa antibiotika, enzim lisis, senyawa volatil, atau senyawa kimia lain), pengimbasan ketahanan tanaman, dan pemacu pertumbuhan tanaman (Compant *et al.*, 2005; Pal & McSpadden Gardener, 2006; Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006).

Persaingan ruang dan nutrisi merupakan mekanisme mendasar dari bakteri antagonis dalam melindungi tanaman dari patogen. Agensia pengendali hayati umumnya mengoloni tanaman dengan cepat, dan menggunakan substrat dan nutrisi yang ada, sehingga menjadi tidak tersedia bagi patogen (Compant *et al.*, 2005; Ahanger *et al.*, 2014; Nega, 2014). Pada beberapa bakteri antagonis, terdapat peran siderofor dalam persaingan ini. Siderofor merupakan senyawa dengan berat molekul rendah yang membantu dalam bersaing dengan patogen tanaman dalam mendapatkan ion besi (Compant *et al.*, 2005). Siderofor yang terbentuk mampu mengikat besi, sehingga tidak tersedia bagi organisme patogen (Ghosh *et al.*, 2015). Menurut Soesanto (2008), di samping berperan dalam persaingan, siderofor juga dapat bersifat fungistatis dan bakteristatis. *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar diketahui mampu menghasilkan siderofor (Abed *et al.*, 2016).

Hiperparasit melibatkan pertumbuhan agensia pengendali hayati pada organisme target, melilit, dan rusaknya dinding sel target. Beberapa mikroba menghasilkan sejumlah enzim yang berpengaruh terhadap rusaknya dinding patogen

(Pal & McSpadden Gardener, 2006; Heydari & Pessarakli, 2010; Junaid *et al.*, 2013). Beberapa genus *Bacillus* dapat menghasilkan berbagai enzim. Setiap *Bacillus* setidaknya mampu menghasilkan 1 jenis enzim. Enzim yang dihasilkan di antaranya protease, penicilinanase, nuklease, fosfatase, lipase, fosfolipase C, tiaminase dan enzim bakteriolis (Slepecky & Hemphill, 2006). *B. subtilis* mampu menghasilkan enzim micosubtilin (Fickers, 2012), xilanase (Khan *et al.*, 2017), dan protease (Tokpah *et al.*, 2016). Beberapa mikroba endofit menghasilkan enzim, seperti -1,3-glukanase, kitinase dan selulase untuk menekan aktivitas patogen tanaman, dengan kemampuan mendegradasi dinding sel jamur (Dutta *et al.*, 2014).

Antibiotika merupakan toksin yang pada konsentrasi kecil, dapat membunuh atau menghambat mikroba lain (Nega, 2014). Sebanyak 169 metabolit sekunder dilaporkan dihasilkan oleh genus *Bacillus* sp. Berbagai strain *B. subtilis* dilaporkan mampu menghasilkan 68 antibiotika, sedangkan *B. brevis* dapat menghasilkan 23 jenis antibiotik. Sebagian besar merupakan antibiotik golongan peptida, dan beberapa yang lain antibiotik golongan butirosin dan protosin. *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dilaporkan menghasilkan phenazine-1-carboxylic acid (PCA) dan turunan lainnya, 2,4 diacetylphologlucinol (DAPG), pyrrolnirin (Prn) dan atau pyoluteorin (Plt) (Raaijmakers & Weller, 1998; Soesanto, 2000; Ahmadzadeh & Tehrani, 2009; Heydari & Pessarakli, 2010).

Bacillus sp dan *Pseudomonas* kelompok pendar juga diketahui mampu menghasilkan senyawa hidrogen sianida (HCN) (Abed *et al.*, 2016). Menurut Rijavec & Lapanje (2016), HCN dapat menjadi racun bagi patogen tanaman, khususnya jamur patogen. Asam sianida bertindak sebagai penghambat metabolisme, dan

berperan dalam predasi atau persaingan (Passari *et al.*, 2016). HCN juga memiliki aktivitas repelen dan nematisida (Nandi *et al.*, 2015).

Bakteri antagonis dapat memacu pertumbuhan tanaman dengan sejumlah mekanisme, di antaranya meningkatkan kelarutan unsur hara tertentu (seperti fosfat), menghasilkan hormon pertumbuhan (*indol acetic acid* = IAA, sitokinin, giberelin dan penghambat etilen), menghasilkan vitamin untuk tanaman, memperbaiki perakaran tanaman, meningkatkan serapan mineral, dan memengaruhi serapan dan metabolisme nitrogen (Compant *et al.*, 2005; Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006; Ryan *et al.*, 2007). Adanya senyawa volatil seperti 2-3 butanediol dan acetoin yang dihasilkan bakteri baru-baru ini diketahui berperan dalam peningkatan pertumbuhan tanaman (Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006). *P. fluorescens* dapat memacu pertumbuhan tanaman langsung, terjadi pada saat bakteri menghasilkan metabolit yang secara langsung memacu pertumbuhan tanaman seperti auksin dan senyawa yang mirip auksin tanpa berinteraksi dengan mikroflora tanah. Menurut Cordero *et al.* (2012) dan Montanez *et al.* (2012), *P. fluorescens* mempunyai sifat *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) karena mampu merangsang pertumbuhan akar dengan menghasilkan IAA, dan mampu meningkatkan kelarutan fosfat. *B. subtilis* juga mampu sebagai PGPR karena mampu menghasilkan senyawa yang dapat memacu pertumbuhan tanaman baik secara langsung ataupun tidak langsung seperti hidrogen sianida (HCN), siderofor, indole acetic acid (IAA), pelarut fosfat dan senyawa anti-jamur (Abed *et al.*, 2016).

Pada tahap penelitian sebelumnya telah diperoleh 52 isolat bakteri rizosfer dan endofit dari tanaman jagung, dan 22 isolat di antaranya berpotensi untuk dikembangkan sebagai agensia pengendali hayati *R. solani*, karena mampu

menghambat pertumbuhan jamur ≥ 50 %. Berkaitan dengan hal tersebut, perlu diketahui mekanisme dari bakteri antagonis tersebut baik sebagai agensia pengendali hayati maupun potensinya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Penelitian bertujuan untuk menentukan mekanisme bakteri rizosfer dan endofit sebagai agensia pengendali hayati jamur *R. solani* ataupun pemacu pertumbuhan tanaman jagung.

B. Materi dan Metode

Bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah 22 isolat bakteri yang mempunyai potensi sebagai pengendali jamur *R. solani* (hasil pengujian tahap sebelumnya). Pengujian secara kualitatif meliputi kemampuan menghasilkan enzim hidrolis (protease, lipase, kitinase, pektinase dan selulase), siderofor, HCN, dan senyawa yang berkaitan dengan kemampuannya untuk memacu pertumbuhan tanaman (IAA dan enzim pelarut fosfat). Pengujian kemampuan bakteri antagonis dalam memacu pertumbuhan bibit jagung juga dilakukan untuk mengetahui kemampuannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. Prosedur pengujian sebagai berikut:

1). Uji protease

Aktivitas kemampuan bakteri antagonis untuk menghasilkan enzim ekstrasel protease dilakukan dengan metode Abed *et al.* (2016). Bakteri yang diuji ditumbuhkan pada medium *Skim Milk Agar* (SMA) dan diinkubasikan pada suhu 28 °C selama 24-48 jam. Adanya zona bening di sekitar koloni menunjukkan bakteri positif menghasilkan enzim protease. Indeks aktivitas protease dinilai berdasarkan diameter zona bening dibandingkan dengan diameter koloni.

Indek proteolitis diukur dengan rumus=
$$\frac{(\text{diameter zona bening}-\text{diameter koloni})}{\text{diameter koloni}}$$

2.) Uji lipase

Pengujian aktivitas kemampuan bakteri antagonis untuk menghasilkan enzim lipase dilakukan menurut metode Djuric *et al.* (2011). Bakteri antagonis yang diuji ditumbuhkan pada medium yang mengandung 1 % Tween 80. Adanya aktivitas enzim lipase ditunjukkan dengan endapan berwarna putih susu di sekeliling koloni bakteri, setelah diinkubasikan pada suhu 28 °C selama 4-7 hari. Indeks lipolisis diukur dengan menggunakan rumus:

$$\text{Indeks lipolisis} = \frac{(\text{diameter putih susu}-\text{diameter koloni})}{\text{Diameter koloni}}$$

3.) Uji selulase

Pengujian aktivitas bakteri antagonis dalam menghasilkan enzim selulase dilakukan menggunakan medium agar M9 yang ditambahkan 10 g dengan komposisi NaCl 0,5 g, KH₂PO₄ 1,0 g, MgSO₄.7H₂O 0,5 g, MnSO₄.H₂O 0,01 g, NH₄NO₃ 0,3 g, FeSO₄.7H₂O 0,01 g, CMC 10,0 g, Agar 1,0 g (Maleki *et al.*, 2010). Setiap bakteri yang diuji ditumbuhkan pada medium tersebut dan diinkubasikan 4-7 hari, pada suhu 28 °C. Setelah diinkubasikan, pada medium ditambahkan 0,1 % congo red, dibiarkan 15 menit, dan kemudian ditambahkan 1 M NaCl, dibiarkan selama 10 menit. Aktivitas hidrolisis ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni (Maleki *et al.*, 2010; Geetha *et al.*, 2014).

4.) Uji kitinase

Pengujian aktivitas bakteri antagonis untuk menghasilkan enzim kitinase dilakukan menggunakan medium dengan komposisi K₂HPO₄ 0,7 g; KH₂PO₄ 0,3 g; MgSO₄.5H₂O 0,5 g; FeSO₄.7H₂O 0,01 g; ZnSO₄ 0,001g; MnCl₂ 0,001g; koloidal kitin 0,2%; Agar 2% (b/v) (Hsu & Lockwood, 1975). Isolat bakteri yang diuji ditumbuhkan pada medium tersebut dan diinkubasikan 4-7 hari. Aktivitas positif

ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar koloni setelah inkubasi 4-7 hari (Wahyudi *et al.*, 2011, Sarbadhikary & Mandal, 2017).

5.) Uji pektinase

Pengujian aktivitas kemampuan bakteri antagonis untuk menghasilkan enzim pektinase dilakukan dengan menumbuhkan bakteri antagonis pada medium M9 yang mengandung 4 g pektin per liter (Geetha *et al.*, 2014). Setelah diinkubasikan pada suhu 28 °C selama 2 hari. Selanjutnya ditambahkan 0,1 % congo red, dan dibiarkan 15 menit dan dibilas dengan 1 N NaCl. Adanya zona bening di sekeliling koloni mengindikasikan adanya produksi pektinase (Geetha *et al.*, 2014; Sharma & Sharma, 2018).

6). Produksi siderofor

Produksi siderofor dari bakteri antagonis dideteksi dengan medium *Chroma Azurol Sulfonate (CAS)* agar. Suspensi bakteri sebanyak 5 µL diteteskan pada kertas saring di atas medium CAS dan dinkubasikan selama 4-7 hari pada suhu ruang (Cherif-Silini *et al.*, 2016). Produksi siderofor diindikasikan dengan adanya warna orange di sekeliling koloni bakteri, dan diameter warna orange diukur (Djuric *et al.*, 2011).

7.) Uji kemampuan menghasilkan HCN

Pengujian kemampuan bakteri dalam menghasilkan HCN dilakukan dengan menumbuhkan bakteri antagonis dalam medium King's B cair yang ditambahkan 4,4 g glisin/L. Potongan kertas saring (10 x 0,5 cm) yang telah direndam dalam larutan asam pikrat 0,5 % dalam Na₂CO₃ 1-2 %, diletakkan menggantung pada mulut tabung reaksi, dan disegel dengan parafilm (Reetha *et al.*, 2014). Sebagai kontrol juga disiapkan medium yang tidak ditumbuhi bakteri antagonis. Setelah diinkubasi selama

48 jam pada suhu 28 ± 1 °C. Produksi HCN ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning menjadi cokelat muda (lemah), cokelat (sedang) atau cokelat kemerahan (kuat) (Geetha *et al.*, 2014; Reetha *et al.*, 2014; Kumar *et al.*, 2016)

8.) Uji kemampuan melarutkan fosfat

Deteksi kemampuan menghasilkan bakteri dalam melarutkan fosfat dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri pada medium Pikovskaya (HiMedia), terdiri atas Yeast extract 0,500 g, Dextrose 10,000 g, Calcium phosphate 5,000 g, Ammonium sulphate 0,500 g, Potassium chloride 0,200 g, Magnesium sulphate 0,100 g, Manganese sulphate 0,0001 g, Ferrous sulphate 0,0001 g, dan agar 15,000 g per L. Setelah diinkubasikan selama 7 hari pada suhu 28 °C, adanya zona bening pada sekeliling koloni bakteri menunjukkan bakteri mempunyai kemampuan menghasilkan enzim fosfatase untuk melarutkan fosfat. Indeks kelarutan diukur menggunakan rumus (Farooq and Bano, 2013):

$$\text{Indeks kelarutan (IK)} = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

Selanjutnya berdasarkan indeks tersebut dikelompokkan sebagai pelarut rendah (jika $IK < 2$), sedang (jika $IK = 2 - 4$), dan tinggi (jika $IK > 4$) (Abreu *et al.*, 2016).

9.) Uji kemampuan menghasilkan senyawa IAA

Deteksi dan kuantifikasi senyawa IAA dilakukan dengan menumbuhkan isolat bakteri dalam medium *Nutrien Broth* (peptone 5 g; yeast ekstrak 1,5 g; beef ekstrak 1,5 g; dan NaCl 5 g) atau Kings B Broth yang diperkaya dengan 5 mM triptofan sebagai prekursor IAA, selama 48 jam (Maleki *et al.*, 2010). Selanjutnya biakan bakteri disentrifuse dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 2 mL ditambahkan 4 mL reagent Salkowski (50 ml 35% asam perklorat, 1 ml 0,5 M larutan FeCl_3). Adanya perubahan warna menjadi pink-merah

menunjukkan adanya produksi IAA, dan selanjutnya diukur *optical density*nya dengan spektrofotometer pada 530 nm. Konsentrasi IAA yang diproduksi diketahui dengan kurva standar dari larutan IAA murni pada kisaran 10-100 mg/ml) (Maleki *et al.*, 2010; Islam *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2015; Djuric *et al.*, 2011).

10) Uji kemampuan bakteri antagonis dalam memacu perkecambahan benih jagung

Pengujian menggunakan Rancangan Acak lengkap dengan 3 ulangan, dan perlakuan yang diuji adalah bakteri antagonis yang punya potensi sebagai pengendali hayati *R. solani*. Pengujian mengikuti metode Khairani (2009) dan Eliza (2004) yang dimodifikasi. Benih jagung sebelum digunakan dicuci dengan air mengalir untuk membersihkan permukaannya dari fungisida. Selanjutnya disterilkan dengan menggunakan natrium hipoklorit 1% selama 30-60 menit, lalu dibilas dengan air steril sebanyak tiga kali. Benih yang telah steril kemudian direndam dengan suspensi bakteri dengan kepadatan 10^8 upk/mL selama 24 jam, dan ditumbuhkan dengan kertas merang/kertas hisap lembap selama 5-7 hari pada suhu ruang. Sebagai pembanding digunakan air steril. Pengamatan dan pengukuran untuk melihat ada tidaknya kemampuan bakteri dalam memacu pertumbuhan tanaman dengan kategori: panjang akar, bobot tunas, dan bobot akar

Analisis Data

Data uji kualitatif dianalisis secara deskriptif, sedangkan data uji pertumbuhan dianalisis berdasarkan uji F, dan jika berpengaruh nyata dilanjutkan dengan DMRT pada taraf kesalahan 5%.

C. Hasil dan Pembahasan

Produksi senyawa yang terkait dengan pengendalian hayati dapat dievaluasi dengan mengukur produksi senyawa antimikroba (siderofor dan HCN), serta enzim hidrolitik (protease, lipase, kitinase, pektinase, dan selulase) (Tabel 7). Kemampuan bakteri antagonis dalam memacu pertumbuhan tanaman, dilihat dengan kemampuannya menghasilkan senyawa IAA dan kemampuannya melarutkan fosfat, serta kemampuan bakteri dalam memacu pertumbuhan bibit jagung (Tabel 8 dan 9).

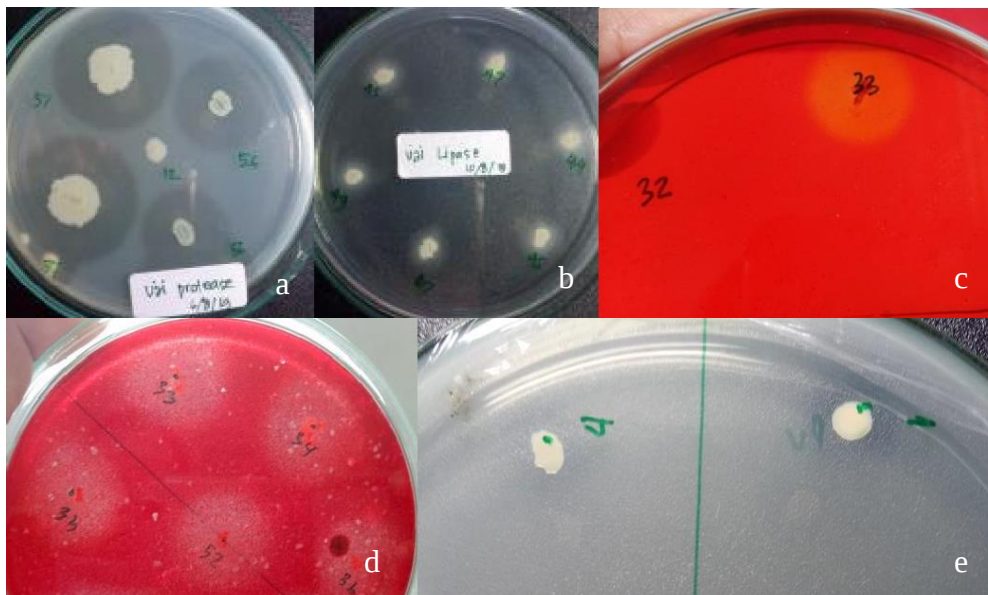
Kemampuan bakteri untuk menghasilkan enzim hidrolisis

Hasil pengujian menunjukkan bahwa seluruh isolat *Pseudomonas* kelompok pendar yang diuji tidak mampu menghasilkan enzim protease dan lipase. Sementara itu, semua isolat *Bacillus* sp. mampu menghasilkan enzim protease dengan indeks aktivitas 1,32-4,14. Hampir semua isolat *Bacillus* sp. mampu menghasilkan enzim lipase dengan indeks aktivitas lipase 1,71-4,00, kecuali *Bacillus* sp. BB.R3 dan *Bacillus* sp. BB.B3 (Tabel 5, Gambar 8). Hal ini diduga berkaitan dengan perbedaan kemampuan individu dari spesies atau sub-spesies dari isolat yang diuji dalam menghasilkan enzim.

Menurut Logan & De Vos (2009), setidaknya terdapat 39 spesies dari genus *Bacillus* sp. *Pseudomonas* kelompok pendar dari golongan non-patogen dan non-nekrosis juga mempunyai beberapa spesies di antaranya *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens*, dan *P. aeruginosa* (Botelho & Mendonça-Hagler, 2006). Hasil yang sama ditunjukkan dari hasil penelitian Mohammad *et al.* (2017), bahwa terdapat keragaman ekskresi ekstrak di antara *B. licheniformis* strain H2-H10, dan 60 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar dalam menghambat patogen

(Khan *et al.*, 2022). Keragaman analisis fenotip dan enzimatis di antara strain dari spesies menunjukkan adanya subspecies (Mohammad *et al.*, 2017).

Kemampuan menghasilkan enzim protease ditunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada medium SMA. Enzim lipase ditunjukkan dengan adanya berwarna putih susu di sekeliling koloni bakteri yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung 1 % Tween 80 (Gambar 8). Menurut Khan *et al.* (2017), beberapa spesies *Bacillus* dilaporkan mampu menghasilkan enzim protease dan lipase. Enzim protease dan enzim lipase berkaitan dengan kemampuan bakteri antagonis sebagai agensia pengendali hayati (Gow *et al.*, 2017).



Gambar 8. Aktivitas enzim hidrolisis. Keterangan: (a) protease, (b) lipase, (c) pektinase, (d) selulase, dan (e) kitinase.

Menurut Olanrewaju *et al.* (2017), enzim protease dapat mendegradasi protein dinding sel jamur; dan enzim lipase dapat mendegradasi beberapa lipid yang berhubungan dengan dinding sel. Kombinasi keduanya dapat membantu melisiskan sel jamur. Lipid pada membran plasma merupakan pengatur penting patogenesis jamur. Berbagai glikolipid telah terbukti memberikan sifat virulen dan daya tahan

pada beberapa spesies jamur (Rella *et al.*, 2016). Enzim ekstrasel protease juga berperan dalam menghambat berbagai komunitas bakteri dan jamur patogen. Enzim protease efektif untuk biokontrol jamur patogen secara langsung maupun tidak langsung (Farooq & Bano, 2013). Enzim protease ekstrasel dapat menonaktifkan senyawa antibiotika yang diproduksi oleh patogen (Anderson *et al.*, 2004). Menurut Figueroa-López *et al.* (2016), enzim protease termasuk yang berperan dalam penghambatan beragam patogen termasuk *Fusarium verticillioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, *P. ultimum*, dan *Rhizoctonia solani*.

Kemampuan bakteri antagonis rizosfer dan endofit dalam menghasilkan enzim kitinase dapat dilihat pada Tabel 8. Dari 22 isolat bakteri yang diuji terdapat 10 isolat yang mampu menghasilkan enzim kitinase, terdiri atas 8 isolat bakteri rizosfer dan 2 isolat bakteri endofit atau terdiri atas 1 isolat bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar dan 9 isolat bakteri *Bacillus* sp. Hasil ini menunjukkan adanya keragaman kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim kitinase baik antar genus *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* ataupun antar isolat. Keragaman analisis fenotip dan enzimatis di antara spesies menunjukkan adanya keragaman subspecies (Mohammad *et al.*, 2017). Adanya enzim kitinase ditunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri, yang dapat diamati mulai 3 hari setelah inokulasi (Gambar 8). Enzim kitinase merupakan enzim yang dapat mendegradasi kitin.

Tabel 8. Hasil pengujian aktivitas enzim, siderofor, dan HCN dari bakteri antagonis rizosfer dan endofit

	Kode isolat	uji protease		Uji lipase		Uji pektinase		Uji selulase	Uji kitinase	uji siderofor		Uji HCN	
		A	I	A	I	A	I			A	I	A	kriteria
Ps. kel. pendar BB. R1	1	-	0,00	-	0,00	+	2,00	+	+	+	1,12	-	-
Ps. kel. pendar BK.R2	4	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	-	-	0,00	+	lemah
Ps. kel. pendar PPD.R2	6	-	0,00	-	0,00	+	2,00	-	+	+	1,50	-	-
Ps. kel. pendar PPD.A1	12	-	0,00	-	0,00	-	0,00	+	-	-	0,00	-	-
Ps. kel. pendar PPD.B5	16	-	0,00	-	0,00	-	0,00	-	+	+	1,23	+	lemah
<i>Bacillus</i> sp. BB-R3	20	+	2,34	+	1,71	-	0,00	+	+	+	1,35	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BB.R5	21	+	2,57	-	0,00	-	0,00	+	+	+	2,14	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BS. R1	22	+	2,87	+	4,00	-	0,00	+	+	-	0,00	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BS. R2	23	+	2,25	+	3,45	-	0,00	+	-	-	0,00	+	lemah
<i>Bacillus</i> sp. BK. R5	30	+	2,44	+	3,58	+	3,50	+	+	+	1,22	+	sedang
<i>Bacillus</i> sp. BK. R6	31	+	2,17	+	3,07	-	0,00	+	-	-	0,00	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BK. R7	32	+	2,57	+	3,82	-	0,00	+	+	-	0,00	+	lemah
<i>Bacillus</i> sp. BK. R8	33	+	3,00	+	2,38	+	6,50	+	+	-	0,00	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BK. R9	34	+	4,38	+	2,44	+	2,50	+	-	-	0,00	+	lemah
<i>Bacillus</i> sp. BS.B2	36	+	2,90	+	3,23	-	0,00	+	-	-	0,00	-	-
<i>Bacillus</i> sp. PPD. B2	37	+	3,00	+	3,90	-	0,00	+	-	-	0,00	+	kuat
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	41	+	4,14	+	3,17	+	2,00	+	-	-	0,00	+	sedang
<i>Bacillus</i> sp. BK.A1	47	+	3,75	+	3,23	-	0,00	+	-	-	0,00	+	sedang
<i>Bacillus</i> sp. BK.A3	49	+	3,20	+	3,73	-	0,00	+	-	-	0,00	+	kuat
<i>Bacillus</i> sp. PK.A5	53	+	4,50	+	3,55	+	3,00	+	-	+	1,5	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BK.B1	54	+	1,32	+	1,88	-	0,00	+	-	+	1,4	+	sedang
<i>Bacillus</i> sp. BB.B3	57	+	2,32	-	0,00	-	0,00	+	+	+	1,17	-	-

Keterangan: Ps = *Pseudomonas*; PK= Purbalingga Karangreja, PB= Purbalingga Bojongsari; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BS= Banyumas Sumbang; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang; R = rizosfer.

Menurut Veliz *et al.* (2017), kitin merupakan komponen penting dari dinding sel serangga dan jamur, telur nematoda, dan beberapa protista. Adanya enzim kitinase akan melemahkan dan mendegradasi dinding sel banyak hama dan patogen, sehingga dapat menunjukkan aktivitas antibakteri, antijamur, insektisida, atau nematisida. Hal ini ditunjukkan oleh pertumbuhan ujung hifa jamur (Gambar 7), yang mengalami degradasi. Enzim kitinolitik dianggap penting dalam mekanisme agensia pengendali hayati untuk jamur patogen karena kemampuannya untuk mendegradasi dinding sel jamur (Singh *et al.*, 1999). Di antara bakteri yang sering digunakan sebagai agensia pengendali hayati, *Bacillus* dan *Pseudomonas* dilaporkan mampu menghasilkan enzim kitinase (Veliz *et al.*, 2017; Ramyasmruthi *et al.*, 2012; Zohora *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2016). *Pseudomonas* kelompok pendar dilaporkan dapat menghasilkan enzim kitinase yang menghambat pertumbuhan jamur *Phytophthora capsici* dan *R. solani* (Arora *et al.*, 2007). Lebih lanjut dilaporkan, enzim kitinase, peroksidase dan β -1,3-glukanase adalah bagian dari PR-protein, dan aktivasiya dapat mengimbas ketahanan sistemik pada tanaman (Olanrewaju *et al.*, 2017).

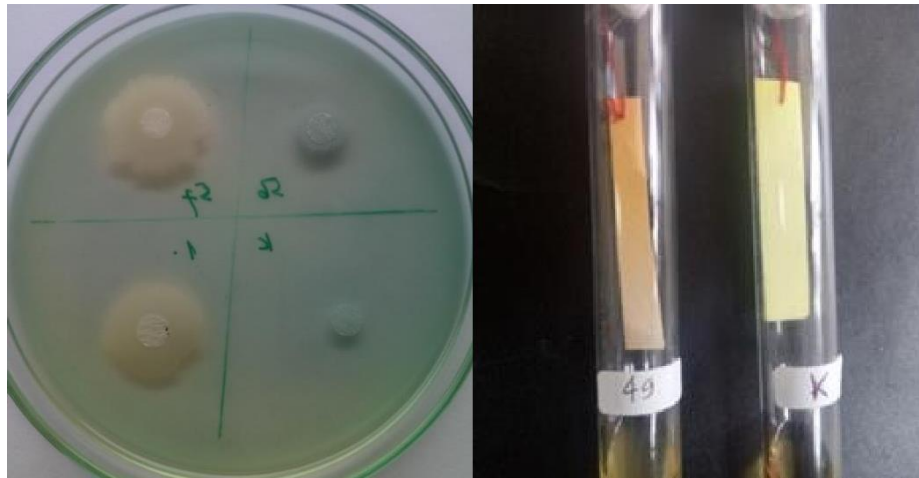
Kemampuan bakteri antagonis rizosfer dan endofit dalam menghasilkan enzim selulase dan pektinase dapat dilihat pada Tabel 7. Kemampuan menghasilkan enzim selulase ditunjukkan pada isolat *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1 dan PPD.A1, serta semua isolat *Bacillus* sp. Pengujian kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim pektinase, isolat *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1, PPD.R2, dan *Bacillus* sp BK.R5, BK.R8, BK.R9, BB.B4, dan PK.A5 mampu menghasilkan enzim pektinase. Adanya enzim selulase dan pektinase ditunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada medium yang mengandung CMC (untuk selulase) dan pektat (untuk pektinase) yang dapat diamati

mulai 4 hari setelah inokulasi (Gambar 8). Enzim hidrolisis selulase dan pektinase dapat mendegradasi selulosa dan pektin, yang merupakan penyusun dinding sel dari tanaman. Hal ini akan membantu mikroba endofit untuk masuk dan menembus jaringan tanaman. Umumnya bakteri endofit berasal dari komunitas bakteri epifit rizosfer dan filoplan, serta dari benih atau bahan tanam, yang selanjutnya hidup sebagai endofit. Selain masuk ke tanaman melalui lubang atau luka alami, bakteri endofit tampak aktif menembus jaringan tanaman menggunakan enzim hidrolisis selulase dan pektiase (Hallmann *et al.*, 1997). Selain itu, pektin berperan dalam stimulasi sintesis surfaktin terkait pembentukan biofilm dan pengkolonian dari mikroba (Wu *et al.*, 2015; Afza *et al.*, 2019). Selulosa juga merupakan komponen dinding sel tanaman beberapa jamur dari Oomycota (Djuric *et al.*, 2011), sehingga adanya enzim selulase akan berpengaruh pada pertumbuhan beberapa jamur patogen. Bakteri *Bacillus pumilus* JK-SX001, *Pseudomonas. polymyxa* GS01, *Bacillus* sp. GS07, dan *Pseudomonas poae* JA01 dilaporkan menghasilkan selulase menunjukkan aktivitas biokontrol potensial terhadap jamur fitopatogen termasuk *R. solani*, *F. oxysporum*, *Pythium ultimum*, dan *Phytophthora capsici* (Mishra *et al.*, 2020).

Kemampuan bakteri untuk menghasilkan siderofor

Siderofor merupakan senyawa pengkelat besi yang dihasilkan sel mikroba dan disalurkan melalui reseptor membran luar. Berdasarkan hasil pengujian, 9 (40,9 %) dari 22 isolat bakteri rizosfer dan endofit yang diuji bakteri mampu menghasilkan siderofor (Tabel 8) dengan indek kemampuan 1,22-2,14, terdiri atas 2 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar asal rizosfer, 1 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar asal endofit, 3 isolat *Bacillus* sp. asal rizosfer dan 3 isolat *Bacillus* sp. asal

endofit. Adanya siderofor ditunjukkan dengan perubahan warna medium di sekitar koloni bakteri dari biru menjadi orange atau kekuningan (Gambar 9).



Gambar 9. Aktivitas siderofor dan HCN. Keterangan: a) siderofor dan b) HCN.

Menurut Loudon *et al* (2011), pada medium CAS agar menggunakan chrome azurol S (CAS) dan hexadecyl trimethyl ammonium bromide (HDTMA) sebagai indikator. Komplek CAS/HDTMA dengan ion besi akan menghasilkan warna biru. Ketika ada senyawa pengkelat besi yang kuat seperti siderofor, maka akan menghilangkan besi dari kompleks pewarna, sehingga warnanya akan berubah dari biru menjadi oranye.

Siderofor disekresikan oleh mikroba ketika ketersediaan zat besi di dalam tanah rendah. Besi adalah kofaktor penting untuk banyak reaksi enzim dan merupakan nutrisi penting untuk hampir semua organisme. Pada kondisi aerob, besi dalam bentuk besi (Fe^{3+}) bereaksi untuk membentuk hidroksida dan oksihidroksida yang sangat tidak larut dan tidak tersedia untuk tumbuhan dan mikroba (Ahmad & Kibret, 2014; Saeed *et al.*, 2021). Fe juga penting untuk pembentukan biofilm karena mengatur motilitas permukaan dan menstabilkan matriks polisakarida (Ahmed & Holmström, 2014). Di bawah kondisi pertumbuhan kahat besi, kehidrofoban

permukaan mikroba menurun yang mengubah komposisi protein permukaan dan menyebabkan pembatasan pembentukan biofilm (Ahmed & Holmström, 2014).

Ada tiga jenis utama siderofor yang dikenal yaitu hidroksamat, katekolat, dan karboksilat. Jenis siderofor hidroksamat dan karboksilat umum dihasilkan oleh bakteri dan jamur, sedangkan katekolat dihasilkan oleh jenis bakteri tertentu. Beberapa siderofor merupakan fenolat atau lainnya, sebagai campuran (baik gugus fungsi hidroksamat dan katekolat). Siderofor disintesis oleh banyak bakteri, seperti *Pseudomonas* sp., *Azotobacter*, *Bacillus*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Staphylococcus* sp., *Azospirillum*, dan *Rhizobium*. *Pseudomonas* umumnya menghasilkan siderofor yang berpendar kuning-hijau dan larut dalam air dengan gugus hidroksamat dan fenolat, siderofor ini telah diklasifikasikan sebagai pyoverdins atau pseudobactins (Ghosh *et al.*, 2015; Holden & Bachman, 2015; Nivetha *et al.*, 2018).

Siderofor dan turunannya memiliki aplikasi yang luas di bidang pertanian untuk meningkatkan kesuburan tanah dan pengendali hayati jamur patogen. Ion besi merupakan komponen virulensi mikroba yang menginfeksi tanaman. Siderofor yang disekresikan berperan dalam pelarutan besi ini di tanah karena siderofor menghadirkan kelekatan yang tinggi di dalam substrat dan kemampuan untuk menyerapnya. Molekul ini mengikat reseptor spesifik dan secara aktif diangkut melalui membran sel bakteri Gram-negatif dan Gram-positif. Ketersediaan zat besi terjadi oleh kompleks besi dan siderofor bakteri. Hal ini dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan tanaman, dan sebaliknya molekul ini membatasi perolehan besi oleh fitopatogen, sehingga mencegah perkembangbiakan dan virulensinya (Burbank *et al.*, 2015). Siderofor juga digunakan untuk mengurangi tingkat pencemaran logam di

lingkungan khususnya dari tanah dan air (Mohandass, 1985; Ahmed & Holmström, 2014; Nivetha *et al.*, 2018).

Kemampuan bakteri untuk menghasilkan HCN

Hasil pengujian kemampuan bakteri antagonis dalam menghasilkan HCN, menunjukkan bahwa 11 (50 %) isolat bakteri antagonis mampu menghasilkan HCN, dengan kategori lemah (5 isolat), kategori sedang (3 isolat), dan kategori kuat (3 isolat) (Tabel 8). Kemampuan menghasilkan HCN ditunjukkan dengan perubahan warna dari kuning pada kertas saring menjadi cokelat muda (lemah), cokelat (sedang) atau cokelat kemerahan (kuat) (Tabel 8. dan Gambar 9.). Kemampuan menghasilkan HCN dari setiap isolat bakteri beragam. Hasil yang sama disampaikan Ahmadzadeh & Tehrani (2009) bahwa hanya 6 dari 41 rhizobakteri yang diujinya menghasilkan HCN. Menurut Flury *et al.* (2017) dan Gupta & Sinha (2020), HCN merupakan metabolit sekunder toksin dan volatil yang diproduksi oleh sejumlah mikroba, dapat berperan sebagai antimikroba, insektisida, nematisida dan herbisida dan memiliki aktivitas repelen. Banyak genus bakteri seperti *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Bacillus*, dan *Aeromonas* telah dilaporkan mampu menghasilkan HCN (Olanrewaju *et al.*, 2017). Banyak *P. fluorescens* yang berasosiasi dengan tanaman memiliki potensi sebagai agensia pengendali hayati patogen tanaman melalui produksi beberapa senyawa antimikroba termasuk HCN. HCN dilaporkan berperan dalam menekan penyakit akar pada tanaman tembakau, mentimun dan tomat. Penekanan puru akar karena *Meloidogyne javanica* dan pengendalian hama *Odontotermes obesus*, juga dipengaruhi oleh kandungan HCN yang dihasilkan oleh agensia pengendali hayati (Nandi *et al.*, 2015; Flury *et al.*, 2017; Olanrewaju *et al.*, 2017; Gupta & Sinha, 2020).

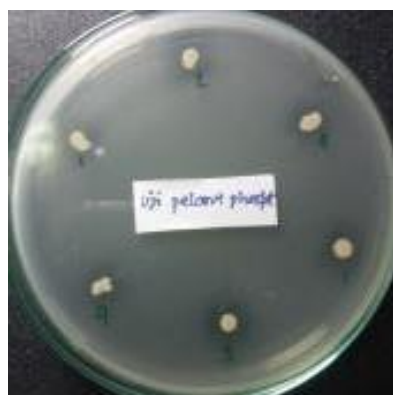
HCN berperan dalam pengendalian hayati patogen tanaman melalui pembatasan pertumbuhan mikroba. Toksisitas HCN dipengaruhi oleh kemampuannya untuk menghambat sitokrom C oksidase serta metaloenzim penting lainnya. Namun demikian, tingkat HCN yang dihasilkan oleh rhizobakteri *in vitro* tidak selalu berkorelasi dengan pengaruh pengendalian hayati yang diamati di lapangan. HCN yang disintesis oleh agensia pengendali hayati bekerja secara sinergis dengan metode biokontrol lain seperti adanya antibiotika atau enzim pengurai dinding sel (Rijavec & Lapanje, 2016). Jika HCN yang dihasilkan oleh bakteri ini adalah satu-satunya mekanisme biokontrol, tingkat HCN yang rendah tidak efektif untuk mencegah perbanyakan sebagian besar jamur patogen (Olanrewaju *et al.*, 2017). HCN tidak hanya bertindak sebagai agensia pengendali hayati, melainkan terlibat dalam proses geokimia seperti khelasi logam, secara tidak langsung meningkatkan ketersediaan fosfat (Rijavec & Lapanje, 2016). Kontribusi utama HCN adalah dalam penyerapan logam, sehingga secara tidak langsung berpengaruh terhadap ketersediaan nutrisi, yang bermanfaat bagi rhizobakteri dan tanaman inangnya (Sagar *et al.*, 2018).

Kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat

Semua isolat *Pseudomonas* kelompok pendar (5 isolat) mampu menghasilkan enzim pelarut fosfat, dengan indeks kelarutan sedang (2-3). Sebagian besar isolat *Bacillus* sp, juga mampu menghasilkan enzim pelarut fosfat, walaupun dengan tingkat kemampuan yang lebih rendah dibanding *Pseudomonas* sp., dan hanya satu isolat *Bacillus* sp. yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat dengan indeks kelarutan sedang (2,60), yaitu *Bacillus* sp PPD B2 (Tabel 8). Hasil ini menunjukkan

adanya keragaman kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat baik antar-genus *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* ataupun antar-isolat.

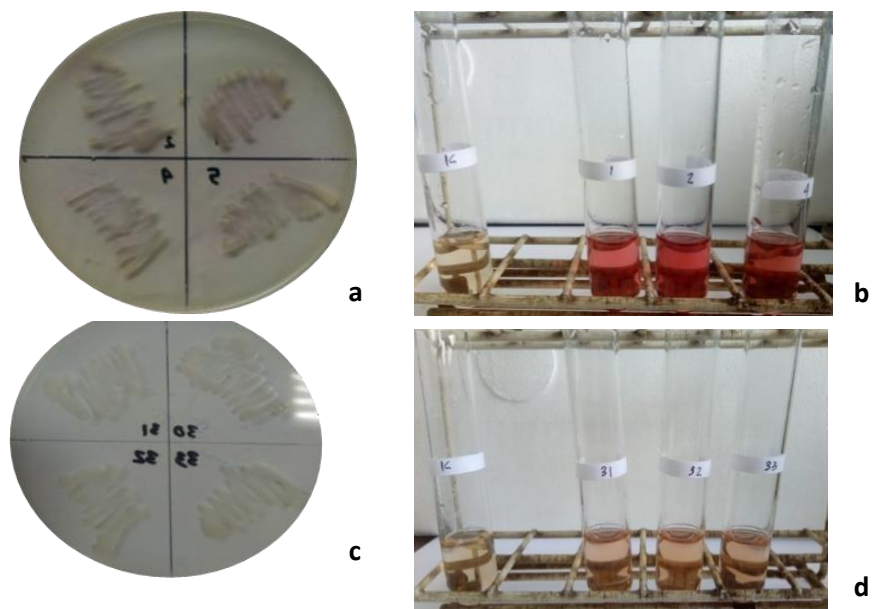
Kemampuan melarutkan fosfat ditunjukkan adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang ditumbuhkan pada medium Pikovkaya (Gambar 10). Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat diduga berkaitan dengan enzim pelarut fosfat yang dihasilkan bakteri dan mengubah fosfat organik dan anorganik yang tidak larut menjadi bentuk yang dapat dengan mudah diakses oleh tanaman. Hal ini yang selanjutnya akan digunakan untuk pertumbuhan tanaman. Menurut Gupta *et al.* (2015); Hassan (2017); Olanrewaju *et al.* (2017); dan Ullah *et al.* (2018), mekanisme pelarutan fosfat utama oleh mikroba pemacu pertumbuhan tanaman meliputi: 1) pelepasan senyawa pelarut mineral seperti anion asam organik, ion hidroksil proton, CO₂, (2) pembebasan enzim ekstrasel untuk pemineralan fosfat secara biokimia), dan (3) pelepasan fosfat selama degradasi substrat (pemineralan fosfat biologis). Genus *Bacillus*, *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Serratia* dan *Azospirillum* merupakan genus bakteri yang paling kuat dalam membantu pelarutan fosfat (Gupta *et al.*, 2015; Olanrewaju *et al.*, 2017).



Gambar 10. Hasil pengujian kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat.

Kemampuan bakteri dalam menghasilkan senyawa IAA

Hasil pengujian kemampuan bakteri rizosfer dan endofit dalam menghasilkan IAA, menunjukkan semua bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp. mampu menghasilkan IAA, kecuali *Bacillus* sp. BK.R8, BS.B2, BK.A3, dengan tingkat konsentrasi yang beragam. Hasil ini dapat dilihat dari perubahan warna yang dihasilkan dan selanjutnya dilakukan pengukuran nilai absorbansi pada panjang gelombang 520 nm (Gambar 11). Secara umum, *Pseudomonas* kelompok pendar menghasilkan konsentrasi IAA yang lebih tinggi dibandingkan dengan *Bacillus* sp. Konsentrasi tertinggi dihasilkan oleh *Pseudomonas* kelompok pendar BB-R1 sebesar 45,26 ppm (Tabel 9). Menurut Gupta *et al.* (2015), *Pseudomonas* merupakan salah satu genus bakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang umum menghasilkan IAA, sebagai salah satu metabolit sekundernya, di samping genus *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Agrobacterium*, *Enterobacter*, dan *Klebsiella*.



Gambar 11. Hasil pengujian kemampuan bakteri rizosfer dan endofit dalam menghasilkan IAA. Keterangan: a-b. Hasil Pengujian dari *Pseudomonas* kelompok pendar, c-d. Hasil pengujian dari *Bacillus* sp.

Tabel 9. Hasil pengujian aktivitas bakteri rizosfer dan endofit dalam melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA

Nama isolat	Kode isolat	uji pelarut fosfat			Uji IAA	
		A	I	A	Abs	Kons
(Ps.) kel. pendar BB. R1	1	+	3,33	+++	0,74	45,26
(Ps.) kel. pendar BK.R2	4	+	2,88	+++	0,52	31,13
(Ps.) kel. pendar PPD.R2	6	+	3,14	+++	0,43	25,01
(Ps.) kel. pendar PPD.A1	12	+	3,57	++	0,33	18,90
(Ps.) kel. pendar PPD.B5	16	+	2,00	++	0,24	12,72
<i>Bacillus</i> sp. BB-R3	20	+	1,15	+	0,10	3,47
<i>Bacillus</i> sp. BB.R5	21	+	1,21	+	0,11	4,71
<i>Bacillus</i> sp. BS. R1	22	+	1,17	+	0,14	6,45
<i>Bacillus</i> sp. BS. R2	23	+	1,20	+	0,09	3,40
<i>Bacillus</i> sp. BK. R5	30	+	1,13	+	0,10	3,62
<i>Bacillus</i> sp. BK. R6	31	+	1,20	+	0,11	4,34
<i>Bacillus</i> sp. BK. R7	32	+	1,15	+	0,10	3,62
<i>Bacillus</i> sp. BK. R8	33	-	0,00	-	0,00	0,00
<i>Bacillus</i> sp. BK. R9	34	+	1,13	+	0,10	3,99
<i>Bacillus</i> sp. BS.B2	36	+	1,15	-	0,00	0,00
<i>Bacillus</i> sp. PPD. B2	37	+	2,60	+	0,11	4,12
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	41	+	1,17	+	0,11	4,31
<i>Bacillus</i> sp. BK.A1	47	+	1,17	+	0,09	3,18
<i>Bacillus</i> sp. BK.A3	49	+	1,27	-	0,00	0,00
<i>Bacillus</i> sp. PK.A5	53	+	1,46	+	0,10	3,95
<i>Bacillus</i> sp. BK.B1	54	+	1,15	+	0,12	5,03
<i>Bacillus</i> sp. BB.B3	57	+	1,25	+	0,11	4,20

Keterangan: Ps= *Pseudomonas*; PK= Purbalingga Karangreja, PB= Purbalingga Bojongsari; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BS= Banyumas Sumbang; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang; R = rizosfer.

Di antara zat pengatur tumbuh, IAA merupakan auksin alami yang paling umum ditemukan pada tanaman dan memberikan pengaruh positif terhadap pertumbuhan akar (Liu *et al.*, 2013; Fu *et al.*, 2015). IAA memengaruhi pembelahan sel tanaman, ekstensi, dan diferensiasi; merangsang perkecambahan biji dan umbi; meningkatkan laju silem dan perkembangan akar; mengontrol pertumbuhan vegetatif; memulai pembentukan akar lateral dan adventif; memediasi tanggap terhadap cahaya dan gravitasi; memengaruhi fotosintesis, pembentukan pigmen, biosintesis berbagai metabolit, dan ketahanan terhadap cekaman. IAA yang dihasilkan oleh bakteri pemacu pertumbuhan tanaman, akan mengubah kumpulan

auksin tanaman, yang pada akhirnya meningkatkan panjang dan luas permukaan akar, dan dalam akhirnya akan meningkatkan nutrisi yang tersedia untuk diserap oleh tanaman (Gupta *et al.*, 2015; Olanrewaju *et al.*, 2017).

Uji kemampuan bakteri antagonis dalam memacu perkecambahan benih jagung

Hasil uji kemampuan bakteri antagonis rizosfer dan endofit dalam memacu perkecambahan benih jagung, menunjukkan hampir seluruh isolat bakteri antagonis rizosfer dan endofit mampu meningkatkan panjang akar dibandingkan kontrol, kecuali isolat *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R2; PPD A1, *Bacillus* BB.R5, BS.R1, BS.R2, BS.B2, PPD.B2. dan BK.A3 (Tabel 9, Gambar 12). Semua isolat bakteri mampu meningkatkan komponen bobot akar dan bobot tunas dari perkecambahan tanaman jagung (Tabel. 10).

Hasil ini menunjukkan bahwa hampir semua isolat bakteri antagonis yang diuji berpotensi untuk meningkatkan atau memacu pertumbuhan tanaman. Hasil ini juga didukung dengan kemampuan dari bakteri tersebut dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat memacu pertumbuhan tanaman, baik secara langsung ataupun tidak langsung, seperti kemampuannya untuk menghasilkan hormon, melarutkan fosfat, berkompetisi dengan siderofor, HCN dan lain sebagainya (Tabel 7 dan 8). Menurut Ryan *et al.* (2007); Gupta *et al.* (2015), dan Olanrewaju *et al.* (2017), kemampuan mikroba untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman, berkaitan dengan kemampuannya untuk berperan dalam siklus nutrisi, sintesis fitohormon, pengaturan keseimbangan osmosis, pengaturan stomata, modifikasi morfologi akar, peningkatan serapan mineral dan perubahan metabolisme tanaman lainnya.

Tabel 10. Pertumbuhan tanaman jagung

Isolat bakteri	Kode isolat	Panjang akar (cm)	Bobot akar (g)	Bobot tunas (g)
Kontrol	0	7,67 abcd	0,05 a	0,05 a
<i>P. kel. pendar BB. R1</i>	1	13,27 ijklmnop	0,29 mnopq	0,32 hi
<i>P. kel. pendar BK.R2</i>	4	9,17 bcdef	0,24 jklmno	0,23 defg
<i>P. kel. pendar PPD.R2</i>	6	12,17 ghijklm	0,31 opq	0,29 ghi
<i>P. kel. pendar PPD.A1</i>	12	8,17 abcde	0,14 cdefg	0,21 cdef
<i>P. kel. pendar PPD.B5</i>	16	14,50 lmnop	0,31 pq	0,35 ij
<i>Bacillus sp. BB-R3</i>	20	14,50 lmnop	0,29 nopq	0,21 cdef
<i>Bacillus sp. BB.R5</i>	21	9,17 bcdef	0,21 ghijkl	0,16 bcd
<i>Bacillus sp. BS. R1</i>	22	10,00 cdefgh	0,21 fghijkl	0,12 b
<i>Bacillus sp. BS. R2</i>	23	11,67 fghijkl	0,17 defghij	0,20 bcdef
<i>Bacillus sp. BK. R5</i>	30	15,33 p	0,31 pq	0,40 jk
<i>Bacillus sp. BK. R6</i>	31	15,00 m op	0,32 pq	0,35 ij
<i>Bacillus sp. BK. R7</i>	32	12,17 ghijklmn	0,25 lmnop	0,19 bcdef
<i>Bacillus sp. BK. R8</i>	33	12,67 hijklmnop	0,15 cdefgh	0,21 cdef
<i>Bacillus sp. BK. R9</i>	34	11,83 fghijkl	0,21 fghijkl	0,48 k
<i>Bacillus sp. BS.B2</i>	36	8,33 bcde	0,14 cdef	0,20 cdef
<i>Bacillus sp. PPD. B2</i>	37	7,00 ab	0,13 cde	0,17 bcdef
<i>Bacillus sp. BB.B4</i>	41	11,50 fghijk	0,24 ijklmn	0,23 defg
<i>Bacillus sp. BK.A1</i>	47	15,33 p	0,22 ghijkl	0,21 cdef
<i>Bacillus sp. BK.A3</i>	49	7,33 abc	0,17 defghi	0,25 fgh
<i>Bacillus sp. PK.A5</i>	53	14,33 klmnop	0,25 klmnop	0,14 bc
<i>Bacillus sp. BK.B1</i>	54	12,00 fghijkl	0,17 defghij	0,19 bcdef
<i>Bacillus sp. BB.B3</i>	57	11,33 fghij	0,21 fghijkl	0,16 bcde

Keterangan: Angka diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada DMRT taraf 5%, *P*= *Pseudomonas*; PK= Purbalingga Karangreja, PB= Purbalingga Bojongsari; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BS= Banyumas Sumbang; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang; R = rizosfer.



Gambar 12. Pertumbuhan tanaman jagung. Keterangan dari kiri ke kanan: K = kontrol; 1 = Ps. kel. pendar BB.R1, 2 = Ps. kel. pendar BK.R2; 4 = Ps. kel. pendar PPD.R2; 5 = Ps. kel. pendar PPD.A1; 6 = Ps. kel. pendar PPD.B5.

D. Simpulan

1. Bakteri antogis rizosfer dan endofit hasil isolasi mampu menghasilkan senyawa metabolit yang dapat merugikan patogen, seperti enzim hidrolisis (protease, lipase, selulase, kitinase), siderofor, HCN, serta senyawa pemacu pertumbuhan tanaman seperti enzim pelarut fosfat dan hormon IAA, dengan kemampuan yang beragam.
2. Secara umum, berdasarkan senyawa metabolit yang dihasilkan, *Bacillus* sp. lebih berpotensi dalam penghambat pertumbuhan patogen, dan *Pseudomonas* kelompok pendar lebih berpotensi dalam memacu pertumbuhan tanaman.

3. Bakteri antagonis rizosfer dan endofit hasil isolasi berpotensi meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung, dengan mampu meningkatkan panjang akar, bobot akar dan panjang tunas dari perkecambahan jagung.

IV. UJI KEMAMPUAN BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT UNTUK MENGENDALIKAN PENYAKIT HAWAR PELEPAH JAGUNG *IN* *PLANTA*

Intisari

Penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah dan memacu pertumbuhan tanaman pada tanaman jagung *in planta*. Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap Kelompok, dengan 8 perlakuan meliputi *Pseudomonas* kelompok pendar BB. R1, *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5, *Bacillus* sp. BB.R3, *Bacillus* sp. BK. R5, *Bacillus* sp. BB.B4, *Bacillus* sp. BK.A1, serta fungisida (fluopikolid 6 % + propineb 67 %) dan kontrol. Variabel yang diamati meliputi masa inkubasi, intensitas penyakit, AUDPC, jumlah daun, tinggi tanaman, bobot tanaman segar dan kering, bobot akar segar dan kering, serta panjang akar. Hasil penelitian menunjukkan bakteri antagonis mampu menekan penyakit hawar pelepah jagung, dengan menurunkan intensitas penyakit 42,87-85,69 % dan AUDPC 53,19-87,23 %. Bakteri rizosfer *Bacillus* sp. BB-R3 dan *Pseudomonas* kelompok fluorescens BB.R1 serta bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 mampu meningkatkan beberapa komponen pertumbuhan tanaman jagung antara 9,5-40,49 %.

Kata kunci: *Bacillus* sp., jagung, *Pseudomonas* kelompok *fluorescens*, pengendalian hayati, penyakit hawar pelepah.

Abstract

This study was aimed to determine the ability of *Bacillus* sp. and fluorescent *Pseudomonad* to control sheath blight and promote plant growth maize *in planta*. The study used a randomized complete block design with eight treatments, including the fluorescent *Pseudomonad* BB.R1, fluorescent *Pseudomonad* PPD.B5, *Bacillus* sp. BB.R3, *Bacillus* sp. BK. R5, *Bacillus* sp. BB.B4, *Bacillus* sp. BK.A1, fungicides (fluopicolide 6% + propineb 67%) and controls. Variables observed included incubation period, disease intensity, AUDPC, number of leaves, plant height, fresh and dry plant weight, fresh and dry root weight, and root length. The results showed that antagonist bacteria could suppress maize sheath blight by reducing disease intensity from 42.87 to 85.69 % and AUDPC from 53.19 to 87.23 %. Endophytic bacteria *Bacillus* sp. BB.B4 and rhizospheric bacteria *Bacillus* sp. BB-R3 and fluorescent *Pseudomonad* BB.R1 increased several components of maize growth between 9.5-40.49 %.

Key words: *Bacillus* sp., biological control, fluorescent *Pseudomonad*, maize, sheath blight.

A. Pendahuluan

Penyakit hawar pelepah jagung yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* f.sp. *sasakii* merupakan salah satu penyakit penting yang menyebabkan rendahnya produksi jagung. Selama dua dekade terakhir, penyakit ini menyebabkan epidemi di negara-negara penghasil jagung, seperti Bhutan, Cina, India, Indonesia, Nepal, Filipina, dan Vietnam, serta di beberapa negara di Afrika dan Amerika Latin (Singh *et al*, 2019). *R. solani* merupakan salah satu patogen yang mempunyai sebaran dan inang yang luas dan destruktif (Ajayi-Oyetunde & Bradley, 2018b). Pada tanaman jagung, jamur dapat menyebabkan pembusukan benih, rebah semai, kanker batang, busuk akar, hawar daun dan pelepah, serta dapat pembusukan biji atau tongkol (Singh *et al.*, 2019). Kerugian akibat penyakit beragam, dipengaruhi kondisi lingkungan dan varietas yang diserang. Menurut Madhavi *et al.* (2011); Izhar & Chakraborty (2010); dan Sharma *et al.* (2020), penyakit hawar pelepah dapat menyebabkan kehilangan hasil antara 11-40%, bahkan hingga 100% pada beberapa varietas, di beberapa daerah hangat dan lembap yang mendukung perkembangan patogen. Mengingat besarnya kerugian yang dapat ditimbulkan, maka upaya pengendalian penyakit hawar pelepah jagung sangat diperlukan.

Upaya pengendalian penyakit hawar pelepah selama ini masih menggunakan pestisida sintetis. Namun demikian, penggunaan pestisida sintetis untuk mengendalikan patogen tular-tanah seringkali tidak efektif dan efisien, dikarenakan patogen telah tahan atau patogen target mampu membentuk struktur istirahat (Soesanto, 2009). Di samping itu, penggunaan pestisida sintetis yang kurang bijaksana juga dapat menimbulkan dampak negatif terhadap lingkungan, organisme bukan sasaran, memicu munculnya patogen kelompok strain baru, dan residu pada

produk pangan (Soylu *et al.*, 2005; Meyer *et al.*, 2006). Pengendalian penyakit hawar pelepah melalui pergiliran tanaman sukar dilakukan mengingat inang dari jamur *R. solani* sangat banyak (Vojvodic *et al.*, 2019). Pengendalian menggunakan varietas tahan terkendala dengan terbatasnya sumber genetika inang tahan terhadap *R. solani* (Sharma *et al.*, 2002). Hingga saat ini, di Indonesia belum dilaporkan adanya varietas tahan untuk penyakit hawar pelepah jagung (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2013; Arvan & Aqil, 2020). Oleh karena itu, perlu dicari alternatif pengendalian yang aman, efektif, sesuai untuk kondisi di Indonesia dan berwawasan lingkungan, serta mendukung pertanian berkelanjutan, di antaranya pengendalian secara hayati.

Pengendalian hayati berpotensi melindungi tanaman selama siklus hidupnya, dengan senyawa toksin yang dihasilkan oleh agensia hayati. Di samping itu, beberapa agensia pengendali hayati, utamanya bakteri antagonis dapat berinteraksi dengan tanaman dengan menghasilkan, zat pengatur tumbuh, membantu kelarutan nutrisi, serta menginduksi ketahanan tanaman. Bakteri antagonis, seperti *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* banyak dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati penyakit yang bersifat tular-tanah dan tular-udara. Bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit tanaman dapat melalui beberapa mekanisme pengendalian, di antaranya persaingan, hiperparasit, menghasilkan senyawa penghambat mikroba (antibiotika, enzim lisis, gangguan fisik atau kimia lain), pengimbasan ketahanan tanaman, dan pemacu pertumbuhan tanaman (Compant *et al.*, 2005; Pal and McSpadden, 2006; Rosenblueth and Martinez Romero, 2006).

Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar asal rizosfer dan endofit, serta telah diuji mampu menghambat pertumbuhan jamur *R. solani in vitro*, dan beberapa di antaranya mampu menghasilkan enzim hidrolisis, siderofor, HCN, IAA, dan dapat memacu pertumbuhan benih jagung. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar asal rizosfer dan endofit dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah dan memacu pertumbuhan tanaman pada tanaman jagung *in planta*.

B. Materi dan Metode

Penelitian dilakukan di Rumah Kaca Fakultas Pertanian Unsoed, menggunakan Rancangan Acak Kelompok. Perlakuan yang digunakan adalah bakteri antagonis yang telah diuji dan berpotensi sebagai agensia pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman (hasil pengujian tahap I dan tahap II) meliputi *Pseudomonas* kelompok pendar BB. R1, *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5, *Bacillus* sp. BB.R3, *Bacillus* sp. BK. R5, *Bacillus* sp. BB.B4, *Bacillus* sp. BK.A1, serta fungisida berbahan aktif fluopikolid 6 % + propineb 67 %, dan kontrol. Masing-masing perlakuan diulang 5 kali, dengan setiap unit perlakuan terdiri atas 2 polibag, yang masing-masing berisi 2 tanaman.

Perbanyakan masing-masing bakteri antagonis dilakukan pada medium NB (*Nutrient Broth*). Sebanyak 200 mL larutan NB dalam labu Erlenmeyer berukuran 250 ml ditambahkan 1 mL biakan murni bakteri antagonis. Selanjutnya biakan bakteri tersebut digojog dengan *Daiki Orbital Shaker* kecepatan 150 rpm selama 48 jam (Muis *et al.*, 2015). Pada akhir penggojogan dilakukan penghitungan kepadatan populasi bakteri dengan metode *total plate counting*. Kepadatan populasi bakteri

yang digunakan untuk perlakuan pengendalian adalah 10^9 upk/mL (Yasmin *et al.*, 2017).

Benih jagung yang digunakan adalah jagung manis varietas Bonanza. Sebelum ditanam benih dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan fungisida yang digunakan untuk perlakuan benih. Perlakuan dilakukan dengan merendam benih selama 12 jam pada biakan bakteri antagonis dengan kepadatan populasi 10^9 upk/mL atau fungisida sesuai perlakuan. Pada perlakuan kontrol, benih direndam dalam air steril. Selanjutnya benih jagung dikeringanginkan dan ditanam pada polibag yang sudah disiapkan. Untuk setiap polibag ditanam 2 benih jagung. Inokulasi jamur *R. solani* dilakukan sebelum tanam, dengan memasukkan biakan jamur sebanyak 3 bor gabur (diameter 0,5 cm) pada setiap lubang tanam. Medium tanam berupa campuran tanah dan pupuk kandang (1 : 1) steril. Perlakuan bakteri antagonis dan fungisida selanjutnya dilakukan dengan menyiramkan sebanyak 25 mL suspensi bakteri antagonis atau fungisida pada bagian pangkal batang tanaman sebanyak 4 kali dengan interval 7 hari.

Variabel yang diamati meliputi masa inkubasi, intensitas penyakit hawar pelepah, AUDPC (*Area Under Disease Progress Curve*), tinggi tanaman, jumlah daun, bobot tanaman segar dan kering, serta bobot akar segar dan kering. Masa inkubasi, diamati sejak inokulasi jamur patogen (atau pada saat tanam) hingga munculnya gejala awal. Pengukuran intensitas penyakit dilakukan dengan metode Ahuya & Payak (1983) sebagai berikut:

$$IP = \frac{\sum ni \times vi}{N \times V} \times 100\%$$

Keterangan:

IP = intensitas penyakit, ni = jumlah tanaman bergejala hawar pelepah pada kategori

tertentu, v_i = nilai skala dari setiap kategori penyakit layu hawar pelepah, N = jumlah tanaman yang diamati, dan V = nilai skala tertinggi dari kategori penyakit (Tabel 11). Nilai skor penyakit hawar pelepah pada tanaman jagung ditentukan mengikuti Ahuya & Payak (1983):

Tabel 11. Kriteria kategori penyakit layu hawar pelepah

Skala	Keparahan
0	Tidak ada gejala pada pelepah batang
1	Hawar terjadi pada pelepah pertama sampai daun pertama
2	Hawar terjadi pada pelepah kedua sampai daun kedua
3	Hawar terjadi pada pelepah ketiga sampai daun ketiga
4	Hawar terjadi pada pelepah keempat sampai daun keempat
5	Hawar terjadi pada pucuk

Luas area yang berada di bawah kurva perkembangan penyakit (*Area Under Disease Progress Curve* (AUDPC) dari penyakit hawar pelepah jagung dihitung dengan menggunakan rumus (Jeger & Viljanen-Rollinson, 2001):

$$AUDPC = \sum_i^{n-1} \left\{ \frac{I_i + I_{i+1}}{2} \right\} (t_{i+1} - t_i)$$

Keterangan :

I_i : Intensitas penyakit tertentu pada pengukuran ke- i

t_i : Waktu (dalam hari) pengukuran i

n : Jumlah total pengukuran

Pengukuran tinggi tanaman, jumlah daun, bobot segar dan kering tanaman, serta bobot segar dan kering akar diukur pada saat pengamatan terakhir. Pengamatan terakhir dan pembongkaran tanaman dilakukan saat tanaman berumur 45 hst, pada akhir stadium vegetatif tanaman jagung.

Analisis Data

Data hasil pengamatan dan pengukuran dianalisis dengan uji F, apabila menunjukkan adanya pengaruh yang nyata dilanjutkan dengan DMRT pada taraf kesalahan 5 %. Analisis data dilakukan dengan DSAASTAT ver 1.101.

C. Hasil dan Pembahasan

Pengamatan pengujian kemampuan bakteri antagonis untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah dan memacu pertumbuhan tanaman meliputi variabel masa inkubasi, intensitas penyakit, AUDPC, tinggi tanaman, jumlah daun, bobot tanaman segar dan kering, bobot akar segar dan kering, serta panjang akar (Tabel 12 dan 13). Masa inkubasi penyakit hawar pelepah diamati dilakukan sejak tanam hingga munculnya gejala awal penyakit. Gejala awal penyakit ditandai dengan adanya bercak pada pelepah, berwarna kelabu seperti jerami, memutih dan nekrosis, selanjutnya meluas hingga ke daun (Gambar 13). Hasil ini sesuai dengan yang disampaikan Chaudhary *et al.* (2016); Sagar & Bhusal (2019), dan Singh *et al.*, (2019) bahwa gejala penyakit umumnya diawali adanya bercak berbentuk bulat tidak beraturan sampai memanjang dengan diameter 1-3 mm, tampak memutih, berwarna seperti jerami, dan nekrosis. Selanjutnya gejala berkembang, dan menyebabkan hawar pada daun dan pelepah daun, kanker batang, busuk akar, pembusukan biji atau tongkol, dan kematian tanaman.



Gambar 13. Gejala penyakit hawar pelepah jagung pada pengujian *in planta*.

Masa inkubasi tercepat terdapat pada perlakuan kontrol yaitu 18 hari setelah inokulasi (hsi) dan terlama pada perlakuan fungisida 37,5 hsi. Berdasarkan hasil analisis statistika, perlakuan bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 dengan masa inkubasi 35 hsi menunjukkan perbedaan nyata dibanding dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 mampu menunda masa inkubasi penyakit sebesar 47,86 % dibandingkan kontrol (tanpa pengendalian) (Tabel 11). Hal ini diduga berkaitan dengan adanya persaingan dan penghambatan yang dilakukan oleh bakteri antagonis, sehingga patogen mengalami kendala dalam menginfeksi tanaman jagung. Hasil ini juga sejalan dengan penelitian sebelumnya bahwa *Bacillus* sp. BB.B4 diketahui mampu menekan pertumbuhan jamur *R. solani in vitro* sebesar 68,20 %.

Tabel 12. Komponen patosistem penyakit hawar pelepah daun jagung

Perlakuan	Masa inkubasi (hsi)	Intensitas penyakit (%)	Penekanan Intensitas penyakit (%)	AUDPC (% hari)	Penekanan AUDPC (%)
(Ps.) kel. pendar BB. R1	28,75 abc	6,25 bc	71,43	76,56 ab	70,21
(Ps.) kel. fluorescens PPD.B5	22,00 ab	12,50 c	42,87	120,31 b	53,19
<i>Bacillus</i> sp. BB.R3	26,25 abc	6,25 bc	71,43	54,69 ab	78,72
<i>Bacillus</i> sp. BK. R5	23,25 ab	10,94 c	50,00	125,78 b	51,06
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	35,00 bc	3,13 ab	85,69	32,81 a	87,23
<i>Bacillus</i> sp. BK.A1	26,25 abc	9,38 c	57,13	76,56 ab	70,21
Fungisida (fluopikolid 6 % + propineb 67 %)	37,50 c	1,56 a	92,87	5,47 a	97,87
Kontrol	18,25 a	21,88 d	-	257,03 c	-

Keterangan: Angka diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada DMRT taraf 5%; hsi = hari setelah inokulasi. Ps= *Pseudomonas*; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang; R = rizosfer.

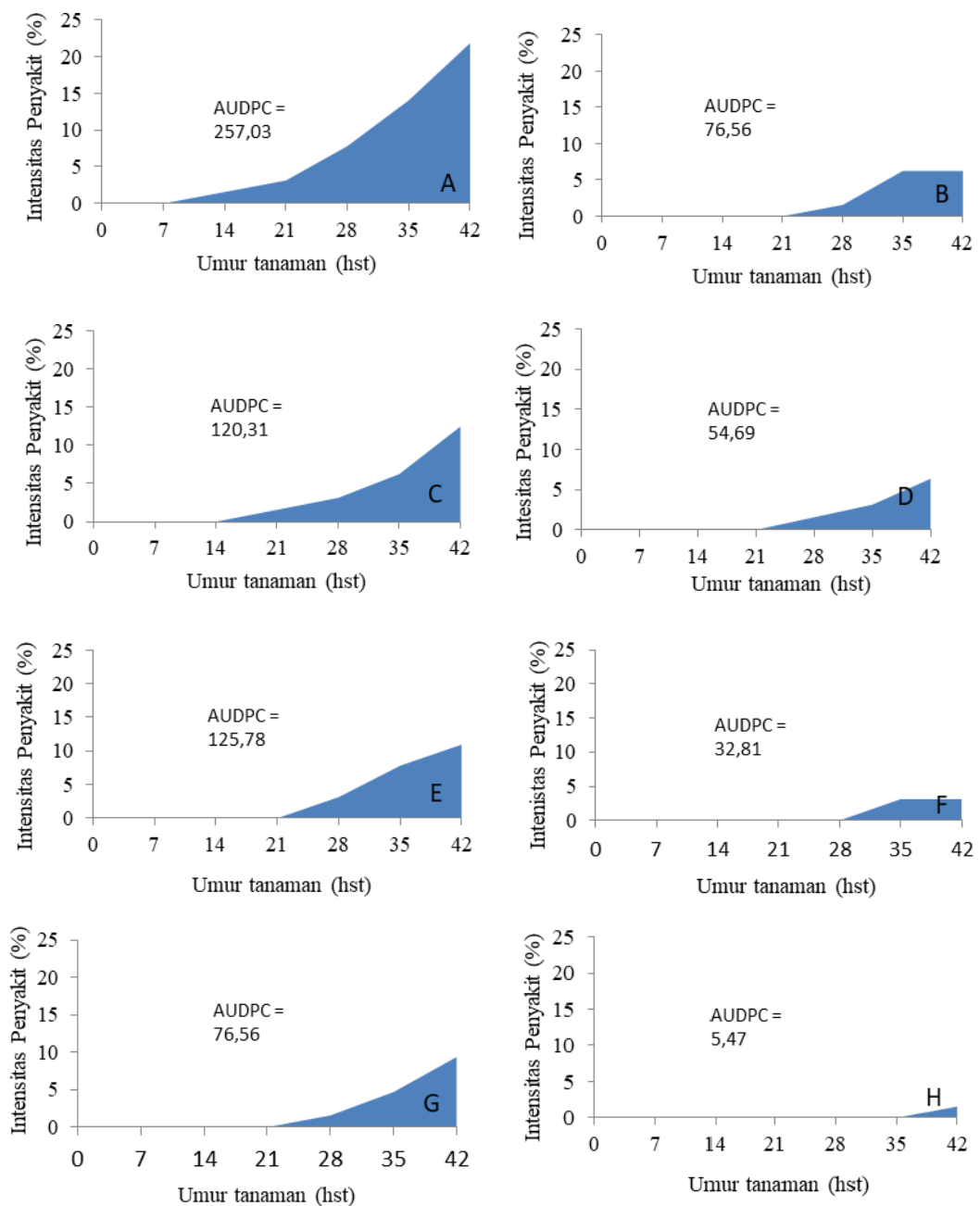
Kemampuan penghambatan bakteri antagonis tersebut, diduga berkaitan dengan senyawa yang dihasilkannya. Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, bakteri *Bacillus* sp. BB.B4 mampu menghasilkan enzim protease, lipase, dan selulase, serta HCN. Menurut Gow *et al.* (2017), enzim protease dan enzim lipase sangat berhubungan dengan kemampuan bakteri antagonis sebagai agensia pengendali hayati. Lebih lanjut Olanrewaju *et al.* (2017) menjelaskan bahwa enzim protease dapat mendegradasi protein dinding sel jamur. Enzim lipase dapat mendegradasi beberapa lipid yang berhubungan dengan dinding sel. Kombinasi keduanya dapat membantu melisiskan sel jamur (Oztekin & Karbancioglu-Guler, 2021). Enzim ekstrasel protease juga berperan dalam menghambat berbagai komunitas bakteri dan jamur patogen dan menonaktifkan senyawa racun yang dihasilkan patogen (Anderson *et al.*, 2004; Farooq & Bano, 2013). Enzim selulase akan memotong ikatan glukon -1,4-D dari selulosa yang juga merupakan komponen

polisakarida dari dinding sel dari bakteri dan jamur tertentu (Mishra *et al.*, 2020). Sementara itu, HCN berperan dalam pembatasan pertumbuhan mikroba, dengan menghambat sitokrom C oksidase yang merupakan bagian rantai respirasi mitokondria, serta metalloenzim penting lainnya (Flury *et al.*, 2017).

Hasil analisis statistika variabel intensitas penyakit dan AUDPC, perlakuan bakteri antagonis menunjukkan perbedaan yang nyata dibandingkan kontrol (Tabel 12). Semua bakteri antagonis yang diuji dan fungisida mampu menekan intensitas penyakit sebesar 42,87-85,69 %. Kemampuan bakteri antagonis dalam menekan intensitas penyakit hawar pelepah dan AUDPC menunjukkan bahwa isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar menunjukkan kemampuan antagonis terhadap patogen hawar pelepah jagung. Kemampuan antagonis ini berhubungan berbagai mekanisme yang dimiliki oleh *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar.

Hasil pengujian mekanisme pada tahap penelitian sebelumnya, bakteri antagonis tersebut dapat menghasilkan berbagai enzim hidrolisis (protease, lipase, selulase, dan kitinase), HCN, dan siderofor. Selain enzim protease, lipase dan selulase, beberapa bakteri antagonis yang diuji mampu menghasilkan enzim kitinase. Enzim kitinase dapat mendegradasi kitin, yang merupakan penyusun dinding sel jamur, sehingga adanya enzim kitinase akan mendegradasi dinding sel jamur patogen dan menyebabkan lisisnya sel jamur (Veliz *et al.*, 2017; Singh *et al.*, 1999). Sementara itu, siderofor yang dihasilkan bakteri antagonis akan membatasi perolehan besi oleh jamur patogen, sehingga mencegah perkembangbiakan dan virulensinya (Burbank *et al.*, 2015). Siderofor juga erat kaitannya dengan kemampuan kompetisi yang tinggi yang dimiliki oleh bakteri antagonis (Ahmed & Holmström, 2014).

Hasil pengamatan untuk variabel AUDPC, perlakuan bakteri antagonis menunjukkan hasil yang cenderung sama dengan hasil variabel intensitas penyakit. AUDPC menggambarkan satu nilai perkembangan penyakit yang merupakan gabungan beberapa intensitas penyakit (Simko & Piepho, 2012). Berdasarkan hasil analisis statistika, semua perlakuan bakteri antagonis menunjukkan perbedaan nyata dengan kontrol, atau mampu menurunkan AUDPC 53,19-87,23 % (Tabel 12). Hasil yang sama ditunjukkan pada grafik kurva perkembangan penyakit (Gambar 14), terlihat area di bawah kurva perkembangan penyakit pada kontrol lebih luas dibandingkan pada perlakuan bakteri antagonis. Diduga, di samping berkaitan dengan kemampuan bakteri antagonis untuk menghambat pertumbuhan jamur patogen secara langsung, dan beberapa mekanisme pengendalian yang sudah diamati sebelumnya. Hal ini juga berhubungan kemampuan bakteri antagonis dalam kemampuannya untuk menginduksi ketahanan tanaman dan menghasilkan senyawa metabolit lain seperti antibiotika. Gond *et al.* (2015) melaporkan, aplikasi bakteri endofit yang diisolasi tanaman gandum mampu meningkatkan regulasi gen pertahanan, seperti PR-1 dan PR-4, yang berperan dalam *Systemic Acquired Resistance* (SAR) pada tanaman *Arabidopsis thaliana*. Beberapa bakteri rizosfer dapat mengimbas ketahanan tanaman dengan menghasilkan senyawa fitoaleksin, yaitu senyawa antimikroba dengan berat molekul rendah yang disintesis oleh dan terakumulasi dalam tanaman setelah terpapar mikroba. Kebanyakan fitoaleksin adalah flavonoid atau senyawa mirip isoflavonoid. Sintesis fitoaleksin dapat digunakan sebagai petunjuk peningkatan mekanisme pertahanan pada tanaman yang diberi perlakuan bakteri (Shindu *et al.*, 2009).



Gambar 14. Kurva perkembangan penyakit hawar pelepah jagung.
Keterangan: A = Kontrol; B = (Ps.) kelompok pendar BB. R1; C = (Ps.) kelompok pendar PPD.B5; D = *Bacillus* sp. BB.R3; E = *Bacillus* sp. BK. R5; F = *Bacillus* sp. BB.B4; G = *Bacillus* sp. BK.A1; dan H = Fungisida.

Genus *Bacillus* sp. dilaporkan menghasilkan 169 metabolit sekunder termasuk antibiotika. Berbagai strain *B. subtilis* dilaporkan mampu menghasilkan 68 antibiotika, sedangkan *B. brevis* dapat menghasilkan 23 jenis antibiotika, yang

sebagian besar dari golongan peptida, dan beberapa yang lain dari golongan butirosin dan protosin (Heydari & Pessarakli, 2010). *Pseudomonas* kelompok pendar dilaporkan menghasilkan phenazine-1-carboxylic acid (PCA) dan turunan lainnya, 2,4 *diacetylphologlucinol* (DAPG), *pyrolnirin* (Prn) dan atau *pyoluteorin* (Plt) (Raaijmakers & Weller, 1998; Soesanto, 2000; Ahmadzadeh & Tehrani, 2009).

Pada semua perlakuan bakteri antagonis, bakteri endofit *Bacillus* sp. BB-4 menunjukkan hasil terbaik yaitu mampu menunda masa inkubasi, serta mempunyai intensitas penyakit dan AUDPC paling kecil. Kemampuan *Bacillus* sp. BB.B4 dalam menghambat perkembangan penyakit baik dalam menunda masa inkubasi, menekan intensitas penyakit dan AUDPC, secara statistika setara dengan kemampuan fungisida (Tabel 12). Hasil ini menunjukkan bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 paling berpotensi sebagai alternatif pengendalian penyakit hawar pelepah jagung yang ramah lingkungan, untuk menggantikan fungisida. Hal ini mengingat bahwa penggunaan fungisida yang tidak bijaksana dan terus menerus dapat memicu munculnya patogen kelompok strain baru yang lebih tahan terhadap bahan kimia, berdampak negatif terhadap kehidupan mikroba tanah, dan membahayakan lingkungan (Soylu *et al.*, 2005; Meyer *et al.*, 2006).

Tabel 13. Komponen pertumbuhan tanaman jagung

Perlakuan	Jumlah daun (helai)		Tinggi Tanaman (cm)		Bobot Tanaman Segar (g)		Bobot Tanaman Kering (g)		Bobot Akar Segar (g)		Bobot Akar Kering (g)		Panjang Akar (cm)	
<i>P. kel. pendar</i> BB.R1	8,59	ab	44,06	abc	108,06	ab	35,35	bc	21,17	ab	6,79	b	88,06	d
<i>P. kel. pendar</i> PPD.B5	7,94	a	42,69	abc	94,49	ab	31,13	ab	16,59	a	5,61	ab	71,21	abc
<i>Bacillus</i> sp. BB-R3	8,76	b	45,56	bc	105,94	ab	35,42	bc	19,33	ab	5,64	ab	77,19	bcd
<i>Bacillus</i> sp. BK.R5	8,39	ab	42,06	ab	90,95	a	31,1	ab	16,62	a	5,06	a	67,44	ab
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	9,01	b	47,06	c	115,72	b	38,54	c	23,28	b	6,93	b	79,06	cd
<i>Bacillus</i> sp. BK.A1	8,58	ab	43,94	abc	94,97	ab	33,19	ab	16,82	a	5,82	ab	66,38	a
Fungisida	8,51	ab	41,69	ab	89,05	a	31,02	ab	16,43	a	4,97	a	72,06	abc
Kontrol	8,00	a	40,19	a	86,97	a	30,38	a	16,57	a	5,26	a	64,56	a

Keterangan: Angka diikuti huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan nyata pada DMRT taraf 5%. *P*=
Pseudomonas; PPD= Purbalingga Padamara; BB= Banyumas Baturaden; BK= Banyumas Kembaran; A= akar; B= batang; R
= rizosfer.

Pengaruh perlakuan bakteri antagonis terhadap komponen pertumbuhan tanaman meliputi jumlah daun, tinggi tanaman, bobot tanaman segar dan kering, bobot akar segar dan kering, serta panjang akar dapat dilihat pada Tabel 13. Hasil analisis statistika menunjukkan perlakuan bakteri antagonis memberikan perbedaan yang nyata pada semua komponen pertumbuhan. Perlakuan bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 menunjukkan hasil terbaik dan pengaruh nyata pada semua variabel komponen pertumbuhan dibandingkan kontrol. *Bacillus* sp. BB.B4 mampu meningkatkan jumlah daun 12,60 %, tinggi tanaman 17,09 %, bobot tanaman segar 33,05 %, bobot tanaman kering 26,85 %, bobot akar segar 40,49%, bobot akar kering 31,74%, dan panjang akar 22,46 %. Bakteri rizosfer *Bacillus* sp. BB-R3 menunjukkan pengaruh nyata terhadap kontrol, dengan meningkatkan jumlah daun 9,5 %, tinggi tanaman 13,36 %, bobot tanaman kering 16,58 % dan panjang akar 19,56 %. Bakteri rizosfer *P.* kelompok pendar BB.R1 memberikan perbedaan nyata terhadap kontrol, dengan meningkatkan bobot tanaman kering 16,35 %, bobot akar kering 29,08 %, dan panjang akar 36.40 %. Namun demikian, ketiga bakteri tersebut secara statistika menunjukkan pengaruh yang sama pada semua variabel komponen pertumbuhan tanaman. Sementara itu, perlakuan bakteri antagonis lainnya tidak mampu memberikan perbedaan nyata dibandingkan kontrol pada semua variabel komponen pertumbuhan.

Berdasarkan hasil pengujian terdapat hubungan antara serangan patogen *R. solani* dan pertumbuhan tanaman. Semakin rendah tingkat serangan patogen, maka pertumbuhan tanaman semakin baik. Hal ini dikarenakan tanaman mampu melakukan proses metabolisme dan fisiologinya dengan normal. Berdasarkan masa inkubasi, intensitas penyakit, dan AUDPC, bakteri antagonis *Bacillus* sp. BB.B4,

Bacillus BB-R3, dan (Ps.) kelompok pendar BB.R1 secara berturut-turut paling mampu dalam menekan perkembangan penyakit hawar pelepah jagung, sehingga pertumbuhan tanaman pada perlakuan tersebut juga baik. Namun demikian, hasil yang berbeda ditunjukkan pada perlakuan fungisida. Walaupun berdasarkan kemampuannya dalam menekan perkembangan penyakit paling tinggi, namun perlakuan fungisida tidak memberikan pengaruh terhadap variabel pertumbuhan. Hal ini menunjukkan bahwa di samping berpengaruh terhadap penekanan penyakit, perlakuan bakteri antagonis juga memiliki peran lain terhadap pertumbuhan tanaman, yaitu sebagai pemacu pertumbuhan tanaman.

Kemampuan bakteri antagonis untuk memacu pertumbuhan tanaman berhubungan dengan kemampuan bakteri tersebut untuk menghasilkan senyawa atau metabolit yang mendukung untuk pertumbuhan tanaman. Pada penelitian sebelumnya diketahui bakteri antagonis yang digunakan mampu membantu melarutkan fosfat, menghasilkan siderofor, menghasilkan hormon IAA, memacu pertumbuhan benih jagung, dan meningkatkan perkaran tanaman. Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat akan mengubah fosfat organik dan anorganik yang tidak larut menjadi bentuk yang dapat dengan mudah diakses oleh tanaman (Hassan, 2017). IAA yang dihasilkan oleh bakteri pemacu pertumbuhan tanaman, akan mempengaruhi auksin tanaman, yang pada akhirnya meningkatkan panjang dan luas permukaan akar, dan meningkatkan nutrisi tersedia untuk diserap oleh tanaman (Gupta *et al.*, 2015; Olanrewaju *et al.*, 2017).

Kemampuan bakteri antagonis untuk memacu pertumbuhan tanaman juga berkaitan dengan kemampuan bakteri dalam mengkoloni perakaran. Kemampuan mengkoloni perakaran meliputi pengkolonian rizosfer, rhizoplane, dan atau di dalam

akar (Weller, 2007). Genus *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar dilaporkan mampu mengkoloni perakaran dengan baik, karena mampu tumbuh dengan cepat dengan memanfaatkan eksudat biji dan akar, bersaing dengan mikroba lain dan beradaptasi dengan lingkungan (Ganeshan & Kumar, 2005; Cavaglieri *et al.* 2005; Weller, 2007). Berdasarkan kemampuannya untuk mengkoloni perakaran, bakteri akan menyelubungi seluruh permukaan akar dan selanjutnya akar akan menyerap produk dalam mikroba yang secara langsung memengaruhi pertumbuhan dan fisiologi akar serta melindungi terhadap serangan patogen (Yulistiana *et al.*, 2020).

Pada bakteri endofit, kolonisasi perakaran juga merupakan hal yang sangat penting agar dapat memberikan manfaat bagi tanaman (Kandel *et al.*, 2017). Pada awalnya, bakteri endofit menempel pada permukaan akar dan selanjutnya menjelajahi tempat masuk potensial untuk masuk ke jaringan internal tanaman. Bukan pada akar seperti tempat munculnya bulu-bulu akar atau akar lateral, stomata, luka dan hidatoda menjadi tempat masuk utama dari bakteri endofit. Selain itu, beberapa bakteri endofit dapat memodifikasi dinding sel tanaman dengan mensekresikan enzim selulolitik seperti selulase, xilanase, pektinase, dan endoglukanase, untuk membantu masuk dan tersebarnya bakteri ke dalam jaringan tanaman (Kandel *et al.*, 2017; Liu *et al.*, 2017). Selanjutnya bakteri berada dalam korteks tanaman ataupun mencapai pembuluh baik xilem maupun floem untuk menyebar secara sistemik ke seluruh tanaman dari akar ke pucuk, pucuk ke bunga atau buah, dan/atau dari bunga ke buah dan biji (Liu *et al.*, 2017; Mengistu, 2020).

D. Simpulan

1. Seluruh bakteri antagonis yang diuji mampu menekan penyakit hawar pelepah jagung, dengan menurunkan intensitas penyakit 42,87-85,69 dan AUDPC 53,19-87,23 %.
2. Bakteri rizosfer *Bacillus* sp. BB-R3 dan (Ps.) kelompok pendar BB.R1 dan bakteri endofit *Bacillus* sp. BB.B4 serta mampu meningkatkan beberapa komponen pertumbuhan tanaman jagung antara 9,5-40, 49 %.

V. IDENTIFIKASI MOLEKUL SERTA ANALISIS SENYAWA METABOLIT SEKUNDER BAKTERI RIZOSFER DAN ENDOFIT JAGUNG

Intisari

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan spesies bakteri antagonis pengendali penyakit hawar pelepah daun dan pemacu pertumbuhan jagung, serta mengetahui jenis metabolit sekunder yang dihasilkan. Identifikasi spesies bakteri rizosfer dan endofit dilakukan berdasarkan tingkat kemiripan urutan gen 16S r RNA dari bakteri uji. Analisis metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry* (GC-MS). Berdasarkan hasil identifikasi molekuler, *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1 dan *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5 merupakan spesies *Pseudomonas putida*; *Bacillus* sp. BB.R3 merupakan spesies *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus* sp. BK. R5; *Bacillus* sp. BB.B4 serta *Bacillus* sp. BK.A1 merupakan spesies *Bacillus subtilis*. Bakteri antagonis menghasilkan berbagai senyawa pengendali hayati (asetamida, asam asetat, asam propanoat, asam benzoat, benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan asam pentanoat tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9-oktadesenoat, sikloheksadiena, 9-oktadesenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadecanoat, dan oksiran); senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol); dan senyawa pengimbas ketahanan tanaman (benzothiazol dan butanediol).

Kata kunci: 16s r RNA, *Bacillus*, GC-MS, metabolit sekunder, *Pseudomonas*.

Abstract

This study aimed to determine the species of antagonistic bacteria controlling sheath blight and growth promoters of maize and determine the type of secondary metabolites produced. The identification of the antagonistic bacterial species was based on the level of similarity of the 16S rRNA gene sequence. Secondary metabolites analysis was performed by using Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS). Based on the results of molecular identification, fluorescent *Pseudomonad* BB.R1 and fluorescent *Pseudomonad* PPD.B5 were *Pseudomonas putida*; *Bacillus* sp. BB.R3 was *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus* sp. BK. R5; *Bacillus* sp. BB.B4 and *Bacillus* sp. BK.A1 were *Bacillus subtilis*. Antagonistic bacteria produced various biological control compounds, *i.e.*, acetamide, acetic acid, propanoic acid, benzoic acid, benzothiazole, phenol, pyrrolidine, and pentanoic acid tetrazole, pyrazine, piperazine, cyclohexanol, 9-octadecenoic acid, cyclohexadiene, 9-octadecenoate, pyrrolo, butanoic acid, octanol, benzaldehyde, propanedioic acid, heptanone, pentadecanoic acid, and oxirane); plant growth-promoting compounds, *i.e.*, L-tryptophan, IAA, gibberellin, and butanediol; and plant resistance-inducing compounds, *i.e.*, benzothiazole and butanediol.

Key words: 16s r RNA, *Bacillus*, GC-MS, *Pseudomonas*, secondary metabolites.

A. Pendahuluan

Upaya meningkatkan produksi tanaman, termasuk jagung, selalu dihadapkan pada berbagai cekaman biotik dan abiotik. Penyakit hawar pelepah jagung merupakan salah satu cekaman biotik yang dapat menurunkan produksi jagung 11-40%, bahkan hingga 100% (Madhavi *et al.*, 2011; Izhar & Chakraborty 2010; Sharma *et al.* 2020). Upaya mengatasi kendala tersebut dengan pestisida kimiawi yang terus-menerus dan tidak bijaksana, seringkali menimbulkan ancaman serius bagi lingkungan (Prashar *et al.*, 2013). Pemanfaatan mikroba yang berasosiasi tanaman merupakan pilihan dalam pertanian berkelanjutan (Saeed *et al.*, 2021).

Bakteri rizosfer dan endofit merupakan kelompok bakteri yang banyak dilaporkan memberikan pengaruh positif pada pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme baik secara langsung maupun tidak langsung (Bharose *et al.*, 2017). Banyak spesies dan strain spesifik bakteri rizosfer dan endofit yang memainkan peran penting dalam pertumbuhan tanaman, meningkatkan hasil panen dan mengurangi timbulnya penyakit (Cherif-Silini *et al.*, 2016). *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp, merupakan genus bakteri antagonis yang banyak ditemukan di rizosfer dan endofit tanaman. Menurut Logan & De Vos (2009), setidaknya terdapat 39 spesies dari genus *Bacillus* sp., dan 5 spesies dari *Pseudomonas* kelompok pendar golongan non-patogen dan non-nekrosis, yang terdiri atas *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. chlororaphis*, *P. aureofaciens* dan *P. aeruginosa* (Botelho & Mendonça-Hagler, 2006).

Pada penelitian sebelumnya telah diperoleh 6 isolat bakteri rizosfer dan endofit, yang berpotensi untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung, terdiri atas 2 isolat *Pseudomonas* kelompok pendar dan 4 isolat *Bacillus* sp. Isolat tersebut

telah dilakukan pengkarakterani morfologi dan biokimia, serta telah diuji kemampuannya untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung di rumah kaca. Namun demikian, identifikasi dan taksonomi bakteri juga harus menggabungkan karakter fenotip dan genotip, termasuk morfologi, biokimia, fisiologi dan kesamaan urutan 16S rRNA (Rossi-Tamisier *et al.* 2015). Sekuens gen 16S rRNA merupakan penanda genetika yang paling umum digunakan untuk mempelajari filogeni dan taksonomi bakteri, karena (i) keberadaannya di hampir semua bakteri, (ii) fungsi gen 16S rRNA dari waktu ke waktu tidak berubah, dan (iii) gen 16S rRNA (~1.500 bp) cukup besar untuk keperluan informasi genetika (Brahmbhatt, 2014). Urutan gen 16S rRNA menunjukkan hubungan evolusi dari strain bakteri dengan genus masing-masing (Naveed *et al.*, 2014). Ambang kesamaan urutan yang saat ini direkomendasikan untuk mengklasifikasikan isolat bakteri adalah 95 % untuk genus dan 98,7 % untuk spesies (Rossi-Tamisier *et al.*, 2015).

Bacillus sp. dan *Pseudomonas* kelompok pendar dalam mengendalikan penyakit tanaman dapat melalui beberapa mekanisme pengendalian, di antaranya persaingan, hiperparasit, kemampuan menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder penghambat mikroba, pengimbasan ketahanan tanaman, dan pemacu pertumbuhan tanaman (Pal & Mc Spadden Gardener, 2006; Rosenblueth & Martínez-Romero, 2006; Compant *et al.*, 2005). Bakteri menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder, di antaranya molekul dengan berat molekul rendah (<300 Da) dan tekanan uap tinggi (0,01 kPa pada 20°C) yang dapat dengan mudah menguap dan berdifusi melalui campuran heterogen padatan, cairan dan gas. Lebih dari 1000 senyawa volatil bakteri telah dilaporkan, menunjukkan keragaman senyawa *volatil* senyawa organik dan anorganik yang dihasilkan oleh bakteri

(Audrain *et al.*, 2015). Beberapa senyawa *volatil* bakteri terbukti memengaruhi pertumbuhan, perbanyakan, pembentukan biofilm dan ketahanan mikroba, serta berpengaruh terhadap mikroba lain, tanaman, invertebrata dan tanah (Kai *et al.*, 2009; Kai & Piechulla, 2010; Wenke *et al.*, 2012; Audrain *et al.*, 2015). *Pseudomonas* dan *Bacillus* sp telah dikenal untuk produksi metabolit sekunder yang berguna. juga menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder (Farak *et al.*, 2006). Kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS) merupakan alat yang dapat digunakan untuk mengetahui jenis dan proporsi komponen dalam campuran kompleks senyawa volatil, dilengkapi informasi tentang setiap massa molekul senyawa yang dipisahkan, seperti komposisi unsur, gugus fungsi, atau geometri molekul (Ananta *et al.*, 2016; Schauer *et al.*, 2005).

Penelitian ini bertujuan untuk identifikasi molekuler spesies bakteri antagonis pengendali penyakit hawar pelepah daun dan pemacu pertumbuhan jagung, serta mengetahui jenis metabolit sekunder yang dihasilkannya.

B. Materi dan Metode

Identifikasi molekul bakteri antagonis

Identifikasi molekul dan analisis metabolit sekunder dilakukan terhadap bakteri rizosfer dan endofit yang mempunyai potensi baik sebagai agensia pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman (hasil penelitian tahap sebelumnya), yaitu *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1, *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5, *Bacillus* sp. BB.R3, *Bacillus* sp. BK. R5, *Bacillus* sp. BB.B4, dan *Bacillus* sp. BK.A1. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus sampai September 2021.

Identifikasi molekul bakteri antagonis dilakukan di Laboratorium Genetika Science, Tangerang Banten. Penyiapan sampel dilakukan di Laboratorium

Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian Unsoed, dengan menumbuhkan bakteri antagonis pada medium NA untuk *Bacillus* sp. dan medium Kings B untuk *Pseudomonas* kelompok pendar. Ekstraksi DNA genom dilakukan *Quick-DNA Fungal/Bacterial Miniprep Kit* (Zymo Research, D6005). Hasil ekstraksi DNA dinilai dengan spektrofotometri (*nanodrop*).

Amplifikasi PCR dilakukan dengan menggunakan primer DNA pengkode 16s RNA yaitu r 27F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG3') dan 1492R (5'-GGTTACCTTGTTACGACTT-3'). PCR dilakukan dengan mereaksikan 200 ng ekstrak DNA, 1 µL forward primer (20 µM), 1 µL reverse primer (20 µM), 25 µL 2x MyTaq HS Red Mix (Bioline, BIO-25048), dan aquabidest steril, hingga volume total mencapai 50 µL. Suhu denaturasi awal 95 °C selama 1 menit, dan selanjutnya denaturasi 95 °C dalam 15 detik; *annealing* dengan suhu 55 °C selama 15 detik dan elongasi pada suhu 72 °C dalam 10 detik. Total siklus sebanyak 35 kali. Kemurnian DNA genom hasil PCR dinilai dengan menggunakan elektroforesis.

Penentuan urutan DNA (sekuensing) dilakukan secara *Bi-directional sequencing* (pengurutan dua arah), yaitu mengacu pada pengurutan untai atas dan untai bawah dari fragmen awal DNA untai ganda dalam reaksi pengurutan yang berbeda secara spasial. Pembacaan urutan atas dan bawah dapat dipasangkan satu sama lain dan dibandingkan selama analisis data. Selanjutnya data yang diperoleh dicocokkan dengan data di gene bank (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>) yang akan menunjukkan kekerabatan spesies tersebut secara genetika.

Analisis kandungan metabolit sekunder bakteri antagonis

Analisis jenis kandungan metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri antagonis dilakukan di Laboratorium Kimia Analisis, Fakultas Farmasi, Universitas

Muhammadiyah, Purwokerto. Penyiapan sampel bakteri untuk analisis dilakukan di Laboratorium Perlindungan Tanaman, Fakultas Pertanian, Purwokerto. Bakteri yang akan dianalisis ditumbuhkan pada medium NB, dan digojog dengan Daiki Orbital Shaker kecepatan 150 rpm pada suhu 28 ± 2 °C selama 4 hari. Selanjutnya kultur bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh dipisahkan dari peletnya, dan digunakan untuk analisis metabolit sekunder (Ananta *et al.*, 2016; Surya *et al.*, 2020)

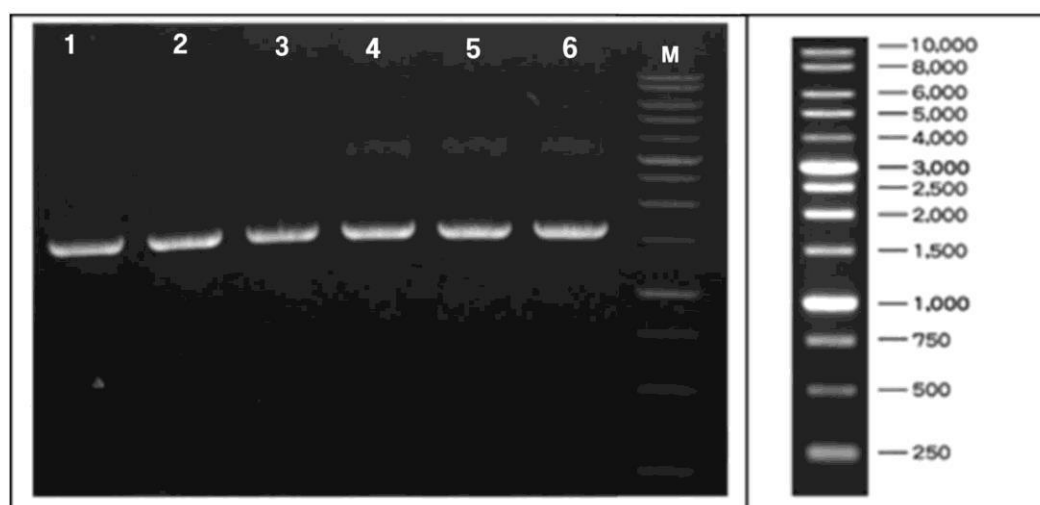
Analisis metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan GC-MS Shimadzu Type QP-2010 SE, dengan kolom MS SH-Rxi5Sil, panjang 30 m, diameter dalam 0,25 mm, dengan kondisi operasi suhu kolom awal 80 °C dan suhu akhir 300 °C, suhu injektor 128 °C, suhu detektor 280 °C, gas pembawa Helium, tipe pengion EI (Electron Impact), volume sampel yang disuntikkan adalah 0,1 µL. Identifikasi senyawa dilakukan dengan bantuan komputer oleh perangkat lunak Perpustakaan Wiley 229, NIST 12, dan NIST 62. Interpretasi spektrum massa GC-MS dilakukan dengan menggunakan database *Institut Nasional Standar dan Teknologi* (NIST) memiliki lebih dari 62.000 pola. Spektrum massa komponen yang tidak diketahui dibandingkan dengan spektrum komponen yang diketahui disimpan di perpustakaan NIST (Prasher & Dhanda, 2017).

C. Hasil dan Pembahasan

Identifikasi molekuler bakteri antagonis

DNA hasil amplifikasi divisualisasi dengan melakukan elektroforesis pada gel agarosa 0,8 % dalam buffer TBE (*Tris-borate-EDTA*). Ukuran DNA hasil PCR dibandingkan dengan penanda (*ladder*) untuk mengetahui panjang DNA sampel. *Ladder* yang digunakan berukuran antara 250 – 10.000 bp. Berdasarkan hasil elektroforesis tersebut terdapat satu pita DNA dengan ukuran sekitar 1500 bp untuk

masing-masing isolat bakteri (Gambar 15).



Gambar 15. Visualisasi hasil amplifikasi sekuen DNA. Keterangan: 1 = *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1, 2 = *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5, 3 = *Bacillus* sp. BB.R3, 4 = *Bacillus* sp. BK. R5, 5 = *Bacillus* sp. BB.B4, 6 = *Bacillus* sp. BK.A1 dan M = Marker.

Hasil sekeunsing (penentuan urutan DNA) dari bakteri antagonis rizosfer dan endofit dengan metode *Bi-directional sequencing* diperoleh suatu rangkaian urutan basa DNA seperti pada Tabel 14-19.

Tabel 14. Urutan basa DNA *Pseudomonas* kelompok pendar BB. R1 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	CGTCTCCCG	AAGGTTAGAC	TAGCTACTTC	TGGTGCAACC	CACTCCCATG	GTGTGACGGG
61	CGGTGTGTAC	AAGGCCCGGG	AACGTATTCA	CGCGACATTC	CTGATTCGCG	ATTACTAGCG
121	ATTCCGACTT	CACGCAGTCG	AGTTGCAGAC	TGCGATCCGG	ACTACGATCG	GTTTTGTGAG
181	ATTAGCTCCA	CCTCGCGGCT	TGGCAACCCT	CTGTACCGAC	CATTGTAGCA	CGTGTGTAGC
241	CAGGCCGTAC	AGGGCCATGA	TGACTTGACG	TCATCCCCAC	CTTCCTCCGG	TTTGTCACCG
301	GCAGTCTCCT	TAGAGTGCCC	ACCATAACGT	GCTGGTAACT	AAGGACAAGG	GTTGCGCTCG
361	TTACGGGACT	TAACCCAACA	TCTCACGACA	CGAGCTGACG	ACAGCCATGC	AGCACCTGTG
421	TCAGAGTTCC	CGAAGGCACC	AATCCATCTC	TGGAAAGTTC	TCTGCATGTC	AAGGCTGGT
481	AAGGTTCTTC	GCGTTGCTTC	GAATTAACCC	ACATGCTCCA	CCGCTTGTC	GGGCCCCCGT
541	CAATTCATTT	GAGTTTTAAC	CTTGCGGCCG	TACTCCCCAG	GCGGTCAACT	TAATGCGTTA
601	GCTGCGCCAC	TAAAATCTCA	AGGATTCCAA	CGGCTAGTTG	ACATCGTTTA	CGGCGTGGAC
661	TACCAGGGTA	TCTAATCCTG	TTTGCTCCCC	ACGCTTTCGC	ACCTCAGTGT	CAGTATCAGT
721	CCAGGTGGTC	GCCTTCGCCA	CTGGTGTTCC	TTCCTATATC	TACGCATTTT	ACCGCTACAC
781	AGGAAATTCC	ACCACCCTCT	ACCGTACTCT	AGCTCGCCAG	TTTTGGATGC	AGTTCCCAGG
841	TTGAGCCCGG	GGCTTTCACA	TCCAACCTAA	CGAACCACCT	ACGCGCGCTT	TACGCCAGT
901	AATTCCGATT	AACGCTTGCA	CCCTCTGTAT	TACCGCGGCT	GCTGGCACAA	AGTAACCGGT
961	GCTTATTCTG	TCGGTAACGT	CAAAACAGCA	AGGTATTAC		

Tabel 15. Urutan basa DNA *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	CGTGGTAACC	GTCCTCCCGA	AGGTTAGACT	AGCTACTTCT	GGTGCAACCC	ACTCCCATGG
61	TGTGACGGGC	GGTGTGTACA	AGGCCCGGGA	ACGTATTAC	CGCGACATTC	TGATTCGCGA
121	TTACTAGCGA	TTCCGACTTC	ACGCAGTCGA	GTTGCAGACT	GCGATCCGGA	CTACGATCGG
181	TTTTGTGAGA	TTAGCTCCAC	CTCGCGGCTT	GGCAACCTCT	TGTACCGACC	ATTGTAGCAC

241	GTGTGTAGCC	CAGGCCGTAA	GGGCCATGAT	GACTTGACGT	CATCCCCACC	TTCCTCCGGT
301	TTGTACCCGG	CAGTCTCCTT	AGAGTGCCCA	CCATAACGTG	CTGGTAACTA	AGGACAAGGG
361	TTGCGCTCGT	TACGGGACTT	AACCCAACAT	CTCACGACAC	GAGCTGACGA	CAGCCATGCA
421	GCACCTGTGT	CAGAGTTCCC	GAAGGCACCA	ATCCATCTCT	GGAAAGTTCT	CTGCATGTCA
481	AGGCCTGGTA	AGGTTCTTCG	CGTTGCTTCG	AATTAAACCA	CATGTCCAC	CGCTTGTGCG
541	GGCCCCCGTC	AATTCATTTG	AGTTTTAACC	TTGCGGCCGT	ACTCCCCAGG	CGGTCAACTT
601	AATGCGTTAG	CTGCGCCACT	AAAATCTCAA	GGATTCCAAC	GGCTAGTTGA	CATCGTTTAC
661	GCGGTGGACT	ACCAGGGTAT	CTAATCCTGT	TTGCTCCCA	CGCTTTCGCA	CCTCAGTGTC
721	AGTATCAGTC	CAGGTGGTCG	CCTTCGCCAC	TGGTGTTCT	TCCTATATCT	ACGCATTTCA
781	CCGCTACACA	GGAAATTCCA	CCACCCTCTA	CCGTACTCTA	GCTCGCCAGT	TTTGATGCA
841	GTTCCAGGT	TGAGCCCGGG	GCTTTCACAT	CCAACCTAAC	GAACCACCTA	CGCGCCCTTT
901	ACGCCCAGTA	ATTCCGATTA	ACGCTTGAC	CCTCTGTATT	ACCGCGGCTG	CTGGCCAGCA
961	ATTAGCCGGT	GCTTATTCTG	TCGGAAACGT	CAAAACAGCA	GGGTATTAAT	TTACTGCC

Tabel 16. Urutan basa DNA *Bacillus* sp. BB.R3 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	CAAGTCGAGC	GGACAGATGG	GAGCTTGCTC	CCTGATGTTA	GCGGCGGACG	GGTGAGTAAC
61	ACGTGGGTAA	CCTGCCTGTA	AGACTGGGAT	AACTCCGGGA	AACCGGGGCT	AATACCGGAT
121	GGTTGTCTGA	ACCGCATGGT	TCAGACATAA	AAGGTGGCTT	CGGCTACCAC	TTACAGATGG
181	ACCCGCGGCG	CATTAGCTAG	TTGGTGAGGT	AACGGCTCAC	CAAGGCGACG	ATGCGTAGCC
241	GACCTGAGAG	GGTGATCGGC	CACACTGGGA	CTGAGACACG	GCCCACTC	CTACGGGAGG
301	CAGCAGTAGG	GAATCTTCG	CAATGGACGA	AAGTCTGACG	GAGCAACGCC	GCGTGAGTGA
361	TGAAGGTTTT	CGGATCGTAA	AGCTCTGTTG	TTAGGGAAGA	ACAAGTGCCG	TTCGAATAGG
421	GCGGCTCCTT	GACGGTACCT	AACCAGAAAG	CCACGGCTAA	CTACGGGCCA	GCAGCCGCGG
481	TAATACGTAG	GTGGCAAGCG	TTGTCCGGAA	TTATTGGGCG	TAAAGGGCTC	GCAGGCGGTT
541	TCTTAAGTCT	GATGTGAAAG	CCCCGGGCTC	AACCGGGGAG	GGTCATTGGA	AACTGGGGAA
601	CTTGAGTGCA	GAAGAGGAGA	GTGGAATTCC	ACGTGTAGCG	GTGAAATGCG	TAGAGATGTG
661	GAGGAACACC	AGTGCGAAG	GCGACTCTCT	GGTCTGTAA	TGACGCTGAG	GAGCGAAAGC
721	GTGGGGAGCG	AACAGGATTA	GATACCCTGG	TAGTCCACGC	CGTAAACGAT	GAGTGCTAAG
781	TGTTAGGGGG	TTTCCGCCCC	TTAGTGCTGC	AGCTAACGCA	TTAAGCACTC	CGCCTGGGGA
841	GTACGGTCTGC	AAGACTGAAA	CTCAAAGGAA	TTGACGGGGG	CCCGCACAA	CGGTGGAGCA
901	TGTGGTTTAA	TTCGAAGCAA	CGCGAAGAAC	CTTACCAGGT	CTTGACATCC	TCTGACAATC
961	CTAGAGATAG	GACGTCCCCT	TCGGGGGCAG	AGTGACAGGT	GGTGCATGGT	TGTCGTCAGC
1021	TCGTGTCGTG	AGATGTTGGG	TTAAGTCCCG	CAACGAGCGC	AACCCTTGAT	CTTAGTTGCC
1081	AGCATTCACT	TGGGCACTCT	AAGGTGACTG	CCGGTGACAA	ACCGGAGGAA	GGTGGGGATG
1141	ACGTCAAATC	ATCATGCCCC	TTATGACCTG	GGCTACACAC	GTGCTACAAT	GGACAGAACA
1201	AAGGGCAGCG	AAACCGCGAG	GTAAAGCCAA	TCCCACAAAT	CTGTTCTCAG	TTCGGATCGC
1261	AGTCTGCAAC	TCGACTGCGT	GAAGCTGGAA	TCGCTAGTAA	TCGCGGATCA	GCATGCCGCG
1321	GTGAATACGT	TCCCGGGCCT	TGTACACACC	GCCCGTCACA	CCACGAGAGT	TTGTAACACC
1381	CGAAGTCGGT	GAGGTAACCT	TTATGGAGCC	AGCC		

Tabel 17. Urutan basa DNA *Bacillus* sp. BK.R5 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	CCTTCGGCGG	CTGGCTCCTA	AAAGGTTACC	TCACCGACTT	CGGGTGTTAC	AAACTCTCGT
61	GGTGTGACGG	GCGGTGTGTA	CAAGGCCCGG	GAACGTATTC	ACCGCGGCAT	GCTGATCCGC
121	GATTACTAGC	GATTCCAGCT	TCACGCAGTC	GAGTTGCAGA	CTGCGATCCG	AACTGAGAAC
181	AGATTTGTGG	GATTGGCTTA	ACCTCGCGGT	TTCGCTGCCC	TTTGTCTGT	CCATTGTAGC
241	ACGTGTGTAG	CCCAGGTCAT	AAGGGGCATG	ATGATTTGAC	GTCATCCCA	CCTTCCTCCG
301	GTTTGTACAC	GGCAGTCACC	TTAGAGTGCC	CAACTGAATG	CTGGCAACTA	AGATCAAGGG
361	TTGCGCTCGT	TGCGGGGACTT	AACCCAACAT	CTCACGACAC	GAGCTGACGA	CAACCATGCA
421	CCACCTGTCA	CTCTGCCCC	GAAGGGGACG	TCCTATCTCT	AGGATTGTCA	GAGGATGTCA
481	AGACCTGGTA	AGGTTCTTCG	CGTTGCTTCG	AATTAAACCA	CATGCTCCAC	CGCTTGTCG
541	GGCCCCCGTC	AATTCCTTTG	AGTTTCAGTC	TTGCGACCGT	ACTCCCAGG	CGGAGTGCTT
601	AATGCGTTAG	CTGCAGCACT	AAGGGGCGGA	AACCCCTAA	CACTTAGCAC	TCATCGTTTA
661	CGGCGTGGAC	TACCAGGGTA	TCTAATCCTG	TTCGCTCCCC	ACGCTTTCGC	TCCTCAGCGT
721	CAGTTACAGA	CCAGAGAGTC	GCCTTCGCCA	CTGGTGTTCC	TCCACATCTC	TACGATTTTC
781	ACCGCTACAC	GTGGAATTCC	ACTCTCTCT	TCTGCACTCA	AGTTCCCCAG	TTTCCAATGA
841	CCCTCCCCGG	TTGAGCCGGA	GGCTTTCACA	TCAGACTTAA	AAAACGCGCT	GCGAGCCCTT
901	TACGCCCAAT	AATTCGCGAC	AACGCTTGCC	ACCTACGTAT	TACCGCGGCT	GCTGGTACGT
961	AGTTAGCCGT	GGCTTCTG	TTAGGTACCG	TCAGGTACG	CCCTATT	

Tabel 18. Urutan basa DNA *Bacillus* sp. BB.B4 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	AGTCGAGCGG	ACAGATGGGA	GCTTGCTCCC	TGATGTTAGC	GGCGGACGGG	TGAGTAACAC
61	GTGGGTAAAC	TGCCTGTAAG	ACTGGGATAA	CTCCGGGAAA	CCGGGGCTAA	TACCGATGCG
121	TTGTTTGAAC	CGCATGGTTC	AAACATAAAA	GGGGGCTTCG	GCTACCACTT	ACAGATGGAC
181	CCGCGGCGCA	TTAGCTAGTT	GGTGAGGTAA	CGGCTACCA	AGGCAACCAT	GCGTAGCCGA
241	CCTGAGAGGG	TGATCGGCCA	CCTGAGGACT	GAGACACGGC	CCAGACTCCT	ACGGGAGGCA
301	GCAGTAGGGA	ATCTTCCGAA	ATGGACGAAA	GTCTGACGGA	GCAACGCCGC	GTGAGTGATG
361	AAGGTTTTCG	GATCGTAAAG	CTCTGTTGTT	AGGGAAGAAC	AAGTACCGTT	CGAATAGGGC
421	GGTACCTTGA	CGGTACCTAA	CCGCATAGCC	ACGGCTAACT	ACGTGCCAGC	AGCCGGGGTA
481	ATACGTAGGT	GGCAAGCGTT	GTCCGGAATT	ATTGGGCGTA	AAGGGCTCGC	AGGCGGTTTT
541	CTTAAGTCTG	ATGTGAAAGC	CCTCGGCTCA	ACCGGGGAGG	GTCATTGGAA	ACTGGGGAAC
601	TTGAGTGCAG	AAGAGGAGAG	TGGAATTCCA	CGTGAGCGG	TGAAATGCGT	AGAGATGTGG
661	AGGAACACCA	GTGGCGAAGG	CGACTCTATG	GTCTGTAAT	GACGCTGAGG	AGCGAAAGCG
721	TGGGGAGCGA	ACAGGATTAG	ATACCCTGGT	AGTCCACGCC	GTAAACGATG	AGTGCTAAGT
781	GTTAGGGGGT	TTCCGCCCTT	TAGTGCTGCA	GCTAACGCAT	TAAGCACTCC	GCCTGGGGAG
841	TACGGTCGCA	AGACTGAAAC	TCAAAGGAAT	TGACGGGGGC	CCGCACAAGC	GGTGGAGCAT
901	GTGGTTTAA	TCGAAGCAAC	GCGAAGAACC	TTACCAGGTC	TTGACATCCT	CTGACAATCC
961	TAGAGATAGG	ACGTCCCCTT	CGGGGGCAGA	GTGACAGGTG	GTGCATGGTT	GTCGTCAGCT
1021	CGTGTCGTGA	GATGTTGGGT	TAAGTCCCGC	AACGAGCGCA	ACCTTGATC	TTAGTTGCCA
1081	GCATTCAGTT	GGGCACTCTA	AGGTGACTGC	CGGTGACAAA	CCGGAGGAAG	GTGGGGATGA
1141	CGTCAAATCA	TCATGCCCTT	TATGACCTGG	GCTACACACG	TGCTACAATG	GACAGAACAA
1201	AGGGCAGCGA	AACCGCGAGG	TTAAGCCAAT	CCCAAAATC	TGTTCTCAGT	TCGGATCGCA
1261	GTCTGCAACT	CGACTGCGTG	AAGCTGGAAT	CGCTAGTAAT	CGCGGATCAG	CATGCCGCGG
1321	TGAATACGTT	CCCGGGCCTT	GTACACACCG	CCCGTCACAC	CACGAGAGTT	TGTAACACCC
1381	GAAGTCGGTG	AGGTAACCTT	TTAGGAGCCA	GCCGCCGAAG		

Tabel 19. Urutan basa DNA *Bacillus* sp. BK.A1 hasil amplifikasi dengan primer 16s RNA r 27F dan 1492R

1	TCGGCGGGCTG	GCTCCTAAAA	GGTTACCTCA	CCGACTTCGG	GTGTTACAAA	CTCTCGTGGT
61	GTGACGGGCG	GTGTGTACAA	GGCCCGGGAA	CGTATTCACC	GCGGCATGCT	GATCCGCGAT
121	TACTAGCGAT	TCCAGCTTCA	CGCAGTCGAG	TTGCAGACTG	CGATCCGAAC	TGAGAACAGA
181	TTTGTGGGAT	TGGCTTAACC	TCGCGGTTTC	GCTGCCCTTT	GTTCTGTCCA	TTGTAGCACG
241	TGTGTAGCCC	AGGTCATAAG	GGGCATGATG	ATTTGACGTC	ATCCCCACCT	TCCTCCGGTT
301	TGTACCCGGC	AGTCACCTTA	GAGTGCCCAA	CTGAATGCTG	GCAACTAAGA	TCAAGGGTTG
361	CGTCTGTTGC	GGGACTTAAC	CCAACATCTC	ACGACACGAG	CTGACGACAA	CCATGCACCA
421	CCTGTCACTC	TGCCCCGAA	GGGGACGTCC	TATCTTAGG	ATTGTAGAG	GATGTCAAGA
481	CCTGGTAAGG	TTCTTCGCGT	TGCTTCGAAT	TAAACCACAT	GCTCCACCGC	TTGTGCGGGC
541	CCCCGTCAAT	TCCTTTGAGT	TTCAGTCTTG	CGACCGTACT	CCCCAGGCGG	AGTGCTTAAT
601	GCGTTAGCTG	CAGCACTAAG	GGGCGGAAAC	CCCCTAACAC	TTAGCACTCA	TCGTTTACGG
661	CGTGGACTAC	CAGGGTATCT	AATCCTGTTC	GCTCCCCACG	CTTTCGCTCC	TCAGCGTCAG
721	TTACAGACCA	GAGAGTCGCC	TTCGACACTG	GTGTTCTCTC	ACATCTCTAC	GCAATTCACC
781	GCTACACGTG	GAATCCACT	CTCCTCTTCT	GCACTCAAGT	TCCCCAGTTT	CCAATGACCC
841	TCCCCGGTTG	AGCCGGGGGC	TTTCACATCA	GACTTAAGAA	ACCGCTGCG	AGCCCTTTAC
901	GCCCAATAAT	TCCGGACAAC	GCTTGCCACC	TACGTATTAC	CGCGGCTGCT	GGCACTTAAT
961	TAGCCGGGGC	TTTCTGGTTA	GGTACCGTCA	AGGTACCG		

Berdasarkan hasil sekuens bakteri antagonis (Tabel 13-18) dan hasil penelusuran dengan data di *gene bank* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/>), isolat bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1 menunjukkan kemiripan dengan spesies *P. putida* strain HN2013 dan HN2010 dengan tingkat kemiripan 99,70 %. *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5 menunjukkan kemiripan dengan spesies *P. putida* strain HN2013 dan HN2010 dengan tingkat kemiripan 99,41 %. *Bacillus* sp. BB.R3 menunjukkan kemiripan dengan *B. amyloliquefaciens* strain W36 dan strain MPF15 dengan tingkat kemiripan dengan 99,72 %. *Bacillus* sp. BK. R5; *Bacillus* sp. BB.B4 dan *Bacillus* sp. BK.A1 mempunyai kemiripan dengan *B. subtilis* dari beberapa strain dengan tingkat kemiripan $\geq 99,30\%$. Kemiripan urutan gen 16S rRNA dari isolat bakteri antagonis yang diuji disajikan pada Tabel 20.

Berdasarkan nilai kemiripan sekuens 16 S rRNA dari bakteri antagonis dengan spesies referensi yang lebih dari 99%, maka isolat bakteri antagonis tersebut dapat dinyatakan sebagai satu spesies dengan bakteri referensi dan memiliki hubungan filogenetika yang tinggi. Hal ini sesuai pendapat Rossi-Tamisier *et al.* (2015) dan Beyer *et al.* (2018) bahwa dua isolat dapat dianggap sebagai spesies yang sama jika mempunyai kesamaan urutan gen 16S rRNA $> 98,7\%$, dan untuk genus yang sama

Tabel 20. Kemiripan urutan gen 16S rRNA dari isolat bakteri antagonis

No		Ukuran DNA (bp)	Spesies bakteri	No Assesi	Negara	Persentase kemiripan (%)	Query Coverage (%)	Score total
1	<i>Pseudomonas</i> kelompok pendar BB.R1	999	<i>Pseudomonas putida</i> strain HN2013 <i>Pseudomonas putida</i> strain HN2010	MT515799.1 MT515798.1	China China	99,70 99,70	99 99	1827 1827
2	<i>Pseudomonas</i> kelompok pendar PPD.B	1.019	<i>Pseudomonas putida</i> strain HN2013 <i>Pseudomonas putida</i> strain HN2010	MT515799.1 MT515798.1	China China	99,41 99,41	100 100	1849 1827
3	<i>Bacillus</i> sp. BB.R3	1.414	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain W36 <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> strain MPF15	MN922613.1 MT487666.1	China USA	99,72 99,72	100 100	2590 2590
4	<i>Bacillus</i> sp. BK. R5	1.007	<i>Bacillus subtilis</i> strain LCXP2-2 <i>Bacillus subtilis</i> strain GXNN20210104-2	MN013927.1 OK090899.1	China China	99,50 99,50	100 100	1834 1832
5	<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	1.420	<i>Bacillus subtilis</i> strain I5-3 <i>Bacillus subtilis</i> strain GXNN20210104-2	KU229979.1 OK090899.1	China China	99,30 99,30	100 100	2567 2566
6	<i>Bacillus</i> sp. BK.A1.	998	<i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> strain F18 <i>Bacillus subtilis</i> strain GXNN20210104-2	HQ336632.1 OK090899.1	Denmark China	99,70 99,60	100 100	1827 1821

jika mempunyai nilai kesamaan urutan > 95%. Berdasarkan analisis tersebut, isolat bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1 dan *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5 merupakan spesies *P. putida*, *Bacillus* sp. BB.R3 merupakan *B. amyloliquefaciens*, *Bacillus* sp. BK. R5; *Bacillus* sp. BB.B4; serta *Bacillus* sp. BK.A1 merupakan *B. subtilis*. *P. putida*, *B. amyloliquefaciens*, dan *B. subtilis* merupakan bakteri yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati patogen dan pemacu pertumbuhan tanaman (Botelho & Mendonça-Hagler, 2006; Logan & De Vos, 2009; Zalila-Kolsi *et al.*, 2016).

Analisis urutan komparatif 16S rRNA saat ini merupakan pendekatan yang paling banyak digunakan untuk rekonstruksi filogeni bakteri. Analisis sekuens gen 16S rRNA dapat lebih baik mengidentifikasi isolat yang tidak terdeskripsikan dengan baik, karena sukar diisolasi, atau mengalami penyimpangan fenotip. Analisis ini dapat digunakan secara rutin untuk identifikasi bakteri dan dapat mengarah pada pengenalan patogen baru dan bakteri non-biakan. Hasil analisis molekul mendukung hasil pengkarakteran koloni morfologi dan biokimia yang sudah dilakukan pada penelitian sebelumnya.

Analisis kandungan metabolit sekunder bakteri antagonis

Berdasarkan hasil analisis dengan GM-MS diperoleh 294 jenis senyawa metabolit sekunder dari bakteri *P. fluorescens* BB.R1; 310 senyawa dari bakteri *P. putida* PPD.B; 327 senyawa dari *B. amyloliquefaciens* BB.R3; 311 senyawa dari *B. subtilis* BK.R5; 314 senyawa dari *B. subtilis* BB.B4; dan 302 senyawa dari *B. subtilis* BK.A1 (Lampiran). Di antara senyawa tersebut terdapat beberapa senyawa yang diduga berperan dalam kemampuannya sebagai pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman (Tabel 21-26).

Gugus senyawa asetamida, asam asetat, asam propanoat, dan asam benzoat

merupakan gugus senyawa yang dihasilkan oleh semua isolat bakteri antagonis yang diuji. Keempat senyawa tersebut berkontribusi dalam perannya sebagai pengendali hayati patogen. Asetamida dan asam propanoat berperan dalam penghambatan pertumbuhan miselium jamur (Kai *et al.*, 2009; Roca-Couso *et al.*, 2021). Asam asetat dan asam benzoat bersifat anti-mikroba (Ananta *et al.*, 2016; Surya *et al.*, 2020).

Senyawa benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan asam pentanoat merupakan senyawa yang dihasilkan oleh hampir semua bakteri antagonis. Benzothiazol tidak dihasilkan hanya pada isolat *B. subtilis* BB.B4, sedangkan fenol dan pyrrolidin tidak dihasilkan hanya pada isolat *B. subtilis* BK.R5. Asam pentanoat tidak dihasilkan oleh bakteri *B. subtilis* BK.R5 dan *B. subtilis* BB.B4.

Benzothiazol berperan dalam menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao *et al.*, 2018) dan mengimbas ketahanan tanaman melalui ekspresi gen untuk protein terkait patogenesis (PR-protein) (Cortes-Barco *et al.*, 2010). Fenol bersifat sebagai anti-jamur (Surya *et al.*, 2020), sedangkan pyrrolidin bersifat anti-jamur dan bakteri (Arslan *et al.*, 2006). Asam pentanoat bersifat anti-bakteri (Surya *et al.*, 2020). Di samping gugus senyawa aktif tersebut, masih terdapat senyawa lain yang dihasilkan bakteri antagonis dan diduga berperan dalam pengendalian hayati patogen, di antaranya tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9-octadecenoat, sikloheksadiena, 9-octadecenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadekanoat, dan oksiran (Tabel 21-26).

Beberapa senyawa metabolit sekunder lain yang dihasilkan bakteri antagonis diduga berkaitan dengan kemampuannya dalam memacu pertumbuhan tanaman. Senyawa tersebut di antaranya L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol. L-tryptophan dihasilkan oleh *P. fluorescens* BB.R1 dan *B. amyloliquefaciens* BB.R3.

Gibberellin dihasilkan oleh *P. putida* PPD.B dan *B. subtilis* BK.R5. IAA dihasilkan oleh *B. subtilis* BB.B4 dan betanediol dihasilkan oleh *B. amyloliquefaciens* BB.R3.

Tryptophan merupakan prekursor utama untuk biosintesis IAA pada bakteri (Spaepen *et al.*, 2007). IAA merupakan hormon pada tanaman yang mengatur pertumbuhan dan perkembangan, seperti pembelahan dan pemanjangan sel, diferensiasi jaringan, dominasi apikal, dan tanggap terhadap cahaya, gravitasi, dan patogen. IAA diperlukan untuk inisiasi akar primer dan lateral, merangsang peningkatan panjang rambut akar yang berasal dari epidermis, pembentukan akar lateral, dan perkembangan akar adventif. Selain itu, IAA memainkan peran utama dalam morfogenesis daun dan pengembangan jaringan pembuluh. IAA terlibat dalam interaksi patogen tanaman mengarah pada pemacu pertumbuhan tanaman dan modifikasi mekanisme pertahanan tanaman (Fu *et al.*, 2015).

Giberelin merupakan hormon yang berfungsi dalam pembentukan dan pengembangan organ reproduksi dan pematangan buah dan biji. Giberelin dapat merangsang perkecambahan biji, pertumbuhan tanaman, pembungaan dan pembuahan, mengatur pembelahan dan pemanjangan sel, merangsang hipokotil, dan pertumbuhan batang (Radhakrishnan & Lee, 2016; Tsukanova *et al.*, 2017). Butanediol berperan dalam pengimbasan ketahanan sistemik dan pemacu pertumbuhan tanaman (Caulier *et al.*, 2018). Menurut Ryu *et al.* (2003), 2,3-butanediol merupakan komponen bakteri penting yang bertanggung jawab untuk sinyal kimia di udara yang memacu pertumbuhan tanaman *Arabidopsis*. Butanediol juga berperan dalam mengimbas ketahanan tanaman. Ketahanan *Nicotiana benthamiana* terhadap patogen antraknosa (*Colletotrichum orbiculare*) diaktifkan 2,3-butanediol melalui ekspresi gen untuk protein terkait patogenesis dasar (Cortes-Barco *et al.*, 2010).

Tabel 21. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *P. putida* BB.R1 dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas senyawa aktif (Pustaka rujukan)
1	4,2	Propanoic acid, 3-bromo-, trimethylsilyl ester (CAS)	0,11	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
2	12,26	3-(2-(3-(trimethylsiloxy)1-octenyl)-4-(trimethylsiloxy)-6-oxo-5,6-dihydro-1,4-pyran-3-yl) propanoic acid methyl ester	0,36	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
3	8,25	3-(2-(3,7-diacetoxy-1-octenyl)-3,5-di(acetoxy)cyclophenyl)propanoic acid methyl ester	0,19	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
4	6,02	Tetrazole, 5-(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-	0,59	Tetrazol	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi <i>et al.</i> , 2011)
5	11,63	L-Tryptophan, N-[(dimethylamino) methylene]-, methyl ester (CAS)	0,45	L-tryptophan	Biosintesis IAA (hormon) (Idris <i>et al.</i> , 2007; Naved <i>et al.</i> , 2015)
6	12,89	9-Octadecenoic acid (Z)-, hexadecyl ester (CAS)	0,13	9-Octadecenoic acid	Antijamur dan antibakteri (Ananta <i>et al.</i> , 2016); Surya, <i>et al.</i> , 2020)
7	7,48	Benzoic acid, 4-[(trifluoroacetyl)oxy]- (CAS)	0,39	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)
8	10,10	2-(1-Methyl-5-pyrazolecarboxamido)benzoic acid	0,39	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016))
9	11,56	5-methyl-3-isopentyl-2-[Z-4-methyl-(1,2,3,3-tetradeuterio)pent-1-enyl]pyrazine	0,1	pyrazin	Bakterisida (Beck <i>et al.</i> , 2003; Gao <i>et al.</i> , 2018; Surya <i>et al.</i> , 2020)
10	6,49	N-(3-benzothiazol-2-yl-6-methyl-4,5,6,7-tetrahydro-thieno[2,3-c]pyridin-2-yl)-4-(3,5-dimethyl-piperidine-1-sulfonyl)-benzamide	0,25	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
11	7,67	2-(Benzo[1,2,5]thiadiazole-4-sulfonylamino)-pentanoic acid	0,79	pentanoic acid	Antibakteri (Surya <i>et al.</i> , 2020)
12	4,7	Piperazine, 1-(aminoacetyl)-	0,25	piperazine	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
13	2,7	Acetic acid, 4,4a,6b,8a,11,11,12b,14a-octamethyl-3-oxodocosahydricen-2-yl ester	0,68	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
14	9,08	Acetic acid, 2-[7-(acetyloxy)-4b-methyl-2-oxo-2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-dodecahydro-1-phenanthrenyl]-, methyl ester	0,58	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)

15	11,91	Acetic acid, 4-methoxy-1,4,4a,5,8,8a-hexahydronaphthalen-1-yl ester	0,15	Acetid acid	Antimikroba l (Surya <i>et al.</i> , 2020)
16	3,96	2-bromo-6-ethoxy-4-(8,9,10,11-tetrahydro-benzo[a]acridin-12-yl)-phenol	0,69	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
17	3,16	3-methyl-1-phenyl-2,5-pyrrolidinedione	0,09	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
18	5,66	7-(chloro-difluoro-methyl)-5-furan-2-yl-pyrazolo[1,5-a]pyrimidine-2-carboxylic acid [3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-propyl]-amide	0,44	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
19	9,81	3-Pyrrolidineacetic acid, .alpha.-amino-5-carboxy-2-oxo-, [3R-[3.alpha.(S*),5.alpha.]]- (CAS)	0,22	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
20	4,9	(Z)-1-Morpholino-1-propenyl-1-cyclohexanol	0,19	Cyclohexanol	menghambat perkecambahan konidium dan pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
21	11,06	2,5-cyclohexadiene-1,4-dione, 2,3,5,6-tetrachloro-	0,16	cyclohexadiene	Antimikroba (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021; (Nair & Padmavathy, 2014)
22	9,93	2-hydroxyimino-n-(p-methoxyphenyl) acetamide	1,16	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
23	3,46	2-[(1,5-diphenyl-1h-imidazol-2-yl)sulfanyl]-n-(4-iodophenyl)acetamide	0,76	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
24	6,97	Acetamide, 2-(3-oxo-4-propyl-2-morpholyl)-N-phenyl-	0,63	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
25	3,40	N1-[1-(1H-3-Indenyl)-5-methyl-1H-1,2,4-triazol-3-yl]acetamide	0,41	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
26	12,87	2-[3-(2-cyano-3-oxo-3-pyrrolidin-1-yl-propenyl)-indol-1-yl]-n-(tetrahydro-furan-2-ylmethyl)-acetamide	0,2	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)

Tabel 22. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *P. putida* PPD.B dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas gugus senyawa aktif	Pustaka rujukan
1	8,3	di-2-benzothiazole disulfane	0,56	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)	
2	4,35	Gibberellin a19 methyl ester	0,43	Gibberellin	Hormon pertumbuhan (Bottini <i>et al.</i> , 2004)	
3	12,41	Oxiranepentanoic acid, 3-undecyl-, methyl ester, cis- (CAS)	0,08	pentanoic acid	Antibakteri (Surya <i>et al.</i> , 2020)	
4	12,5	2-hydroxy-3-(palmitoyloxy)propyl (9e)-9-octadecenoate	0,31	9-Octadecenoate	Antijamur and antibakteri (Ananta <i>et al.</i> , 2016); Surya, <i>et al.</i> , 2020; Jaddoa <i>et al.</i> , 2016)	
5	12,58	3-[2-(N-methylaminomethyl)phenylthio]phenol	0,29	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)	
6	6,16	Propanoic acid, 2-bromo-2-methyl-, ethyl ester	0,38	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)	
7	11,37	2-[2-(4-bromo-phenyl)-2-oxo-ethylsulfanyl]-benzoic acid	0,09	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)	
8	7,34	Pyrrolidine-3-carboxamide, N-(4,5,6,7-tetrahydro-3-cyano-2-benzothienyl)-1-isopropyl-5-oxo-	0,2	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)	
9	10,32	1-[2-(4-chloro-phenyl)-ethyl]-5-oxo-pyrrolidine-3-carboxylic acid 2-(4-chloro-phenyl)-2-oxo-ethyl ester	0,2	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)	
10	12.15	N-(anti(10,11)-Tricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-10endo-yl)pyrrolidine	0,1	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)	
11	3,92	Pyrrolo[1,2-a]pyrimidine-4(6H)-one, 7,8-dihydro-3-acetyl-2-amino-	0,38	Pyrrolo	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)	
12	11,04	Butanoic acid, 2-(2,1,3-benzothiadiazol-4-ylsulfonylamino)-3-methyl-	0,19	Butanoic acid	Antimikroba(Surya <i>et al.</i> , 2020)	
13	8,24	Cyclooctanol, 2-mercapto-	0,07	octanol	Menghambat perkecambahan konidium dan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)	
14	4,67	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-, [(4-hydroxy-3,5-	0,4	Benzaldehyde	Menghambat perkecambahan spora (Kai <i>et al.</i> , 2009)	

15	5,07	dimethoxyphenyl)methylene]hydrazone N-tert-Butyl-2-[2-(hydroxy-phenyl-methyl)- benzoimidazol-1-yl]-acetamide	1,03	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
16	8,75	Acetamide, n-(2-cyano-4,5-dimethoxyphenyl)-2- [methyl(1-methyl-4-piperidiny)amino]-	0,49	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
17	7,88	Acetamide, N-[2-(2-oxopropyl)phenyl]- (CAS)	0,45	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
18	11,84	2-(7-ethyl-4-oxo-3-phenyl-3,4,5,6,7,8- hexahydro-benzo[4,5]thieno[2,3-d]pyrimidin-2- ylsulfanyl)-n-(3-nitro-phenyl)-acetamide	0,39	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
19	5,85	2-[1,4-bis-(4-methoxy-phenyl)-1h-imidazol-2- ylsulfanyl]-n-thiazol-2-yl-acetamide	0,27	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
20	8,43	n-(4'-chlorophenyl)-2-hydroxyimino acetamide	0,26	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
21	10,37	2-[5-(2-Chloro-phenyl)-tetrazol-2-yl]-N-(2,5- dimethyl-phenyl)-acetamide	0,2	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
22	11,98	acetamide, n-methyl-2-(5-methyl-3- trifluoromethylpyrazol-1-YL)-N-(4- trifluoromethoxyphenyl)-	0,13	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
23	12,32	Acetic acid, trifluoro-, 2-[(acetyloxy)methyl]- 2,3,3a,9a-tetrahydro-6-oxo-6H- furo[2',3':4,5]oxazolo[3,2-a]pyrimidin-3-yl ester,	0,2	Acetic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
24	12,23	2-[5-(2-Isobutoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3- ylthio]acetic acid	0,08	Acetic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)

Tabel 23. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *B. amyloliquefaciens* BB.R3 dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas senyawa aktif/Pustaka rujukan
1	5,64	Propanoic acid, 2-[5-(2-hydroxypropyl)tetrahydrofuran-2-yl]-, 1-[5-(1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)tetrahydrofuran-2-yl]propan-2-yl	0,18	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
2	8,06	2-(1,3-benzothiazol-2-yl)-3-[5-(2,4-dichlorophenyl)-2-furyl]-2-propenenitrile	0,45	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
3	12,55	2-hydroxy-3-(palmitoyloxy)propyl (9e)-9-octadecenoate #	0,07	9-Octadecenoate	Antijamur dan antibakteri (Ananta <i>et al.</i> , 2016);
4	10,77	Benzoic acid, 4-[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester (CAS)	0,63	Benzoic acid	Surya, <i>et al.</i> , 2020) Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)
5	12,51	p-Dihydroartemisininoxymethylbenzoic acid	0,31	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)
6	8,46	5-(4-Bromo-benzylsulfanyl)-1-(2-fluoro-phenyl)-1H-tetrazole	0,55	Tetrazol	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi <i>et al.</i> , 2011)
7	5,75	2-[5-(4-methylsulfanyl-phenyl)-tetrazol-1-yl]-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octan-4-one	0,47	Tetrazol	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi <i>et al.</i> , 2011)
8	9,59	6-aza-B-homo-5.alpha.-stigmastano[6,7-d]tetrazole	0,28	Tetrazol	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi <i>et al.</i> , 2011)
9	8,06	2-(1,3-benzothiazol-2-yl)-3-[5-(2,4-dichlorophenyl)-2-furyl]-2-propenenitrile	0,45	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
10	10,21	Propanedioic acid, (1-ethylbutyl)-, dimethyl ester, (R)-	0,29	Propanedioic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
11	8,52	Phenol, 4,4'-sulfonylbis- (CAS)	0,3	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
12	12,54	4-methoxy-2-(1-methyl-1h-benzoimidazol-2-ylazo)-phenol	0,18	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
13	3,94	Phenol, 4-phenyl-2,2',5'-trichloro-	0,11	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
14	13,18	Phenol, 4-methyl-2--(4-isopropylbenzylidenamino)-	0,01	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
15	4,98	S-1-{ {2'-Allyl-2'-phenylpropyliden)amino]-2-{ [(2"-methoxyethoxy)methoxy]methyl}pyrrolidine	0,56	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
16	2,77	1-(2,6-dimethyl-phenyl)-3-[3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-propyl]-thiourea	0,35	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)

17	12,66	2,5-Piperazinediacetamide, N,N'-dihydroxy-N,N'-dimethyl-3,6-dioxo- (CAS)	0,65	Piperazine	Antimikroba, antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006; (Surya <i>et al.</i> , 2020)
18	5,82	3-(4-Adamantan-1-yl-piperazin-1-yl)-1-phenyl-pyrrolidine-2,5-dione	0,17	Piperazine, pyrrolidin	Antimikroba, antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006; Surya <i>et al.</i> , 2020)
19	11,79	Oxiranepentanoic acid, 3-undecyl-, methyl ester, trans- (CAS)	0,15	pentanoic acid	Antibakteri (Surya <i>et al.</i> , 2020)
20	6,66	2,2,3,3,4,4,5,5,5-Nonafluoro-pentanoic acid dicyclohexylamide	0,11	pentanoic acid	Antibakteri (Surya <i>et al.</i> , 2020)
21	2,71	3-Hydroxy-4-(4-methoxyphenoxy)butanoic acid methyl ester	0,61	Butanoic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
22	6,62	4-(4-iodoanilino)-4-oxo butanoic acid	0,2	Butanoic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
23	7,68	3-Heptanone, 6-(dimethylamino)-4,4-diphenyl- (CAS)	0,76	Heptanone	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
24	10,79	1,2-Butanediol, 1-(2-furyl)-2,3-dimethyl- (CAS)	0,25	Butanediol	Pengimbas ketahanan sistemik, pemacu pertumbuhan tanaman (Caulier <i>et al.</i> , 2018)
25	11,03	Oxirane, 2-butyl-3-methyl- (CAS)	0,28	Oxirane	Antijamur (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
26	9,7	2-(Pyridin-2-ylamino)-cyclohexanol	0,1	Cyclohexanol	Menghambat perkecambahan konidium dan pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
27	7,16	n-(2,6-dibromo-4-methoxyphenyl)-2-(4-chlorophenoxy)acetamide	0,33	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
28	10,30	Acetamide, 2-(3-oxo-4-propyl-2-morpholyl)-N-(4-bromophenyl)-	0,32	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
29	11,72	N,N'-Tetramethylenebis[2-(4-methylphenoxy)acetamide]	0,31	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
30	7,82	N-(4-Amino-furazan-3-yl)-2-(5-amino-[1,3,4]thiadiazol-2-ylsulfanyl)-acetamide	0,29	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
31	7,26	Acetamide,N-(3-methyltricyclo[2.2.1.0(3.5)]hept-2-yl)-	0,28	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
32	13,08	2-(5-chloro-3-cyano-4,6-dimethyl-pyridin-2-ylsulfanyl)-n-phenethyl-acetamide	0,12	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
33	12,32	Acetic acid, 2-(2,4-dihydroxybenzylidenamino)-	0,32	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
34	8,37	Acetic acid, 13-acetoxy-4,4,6a,8a,11,11,14b-heptamethyl-docosahydro-picen-3-yl ester	0,3	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
35	3,59	Acetic acid, 7-oxa-2-thiatriacyclo[4.3.1.0(3,8)]dec-10-yl ester	0,11	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)

Tabel 24. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *B. subtilis* BK.R5 dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas senyawa aktif (Pustaka rujukan)
1	13,1	9-Octadecenoic acid, 2-(octadecyloxy)ethyl ester (CAS)	0,8	9-Octadecenoic acid	Antijamur dan antibakteri (Ananta <i>et al.</i> , 2016; Surya, <i>et al.</i> , 2020)
2	12,43	9-Octadecenoic acid (Z)-, 3-[(1-oxohexadecyl)oxy]-2-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (CAS)	0,38	9-Octadecenoic acid	Antijamur dan antibakteri (Ananta <i>et al.</i> , 2016); Surya, <i>et al.</i> , 2020)
3	12,52	Benzenepropanoic acid, 3-methoxy-.alpha.,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester (CAS)	0,1	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
4	4,24	2-hydroxy-5-[(6-methoxy-2-methyl-4-quinoliny)amino]benzoic acid	0,32	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)
5	10,37	Cyclopropanepentadecanoic acid, 2-octadecyl-, methyl ester (CAS)	0,18	Pentadecanoic acid	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
6	11,26	Gibberellin A3 (CAS)	0,33	Gibberellin	Hormon pertumbuhan (Bottini <i>et al.</i> , 2004)
7	12,72	Gibberellin A3 derivative	0,14	Gibberellin	Hormon pertumbuhan (Bottini <i>et al.</i> , 2004)
8	12,82	Acetamide,N-[4-(2-benzothiazolyl)aminosulfonylphenyl]-	0,32	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
9	8,8	Propanedioic acid, (bromomethyl)methyl-, bis[5,6-bis(hydroxyimino)heptyl] ester (CAS)	0,73	Propanedioic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
10	11,25	2-(2-Vinyloxy-ethoxy)-cyclohexanol	0,29	Cyclohexanol	Menghambat perkecambahan konidium dan pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
11	9,64	Acetic acid, 2,3,4-trichloro-6-(n-n-diethylsulfamoyl)phenoxy, ethyl ester	0,56	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
12	7,59	Acetic acid, (5,7-dimethyl-[1,2,4]triazolo[1,5-a]pyrimidin-2-ylsulfanyl)-, methyl ester	0,23	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
13	7,82	Acetamide, 2-(1H-purin-6-ylthio)-N-[(tetrahydro-2-furanyl)methyl]-	0,63	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
14	4,1	Acetamide, 2,2',2'',2'''-(1,2-ethanediyldinitrilo)tetrakis[n-heptyl-N-methyl-	0,46	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)

15	6,39	n,n'-(3,5-dichloro-2,6-pyridinediyl)bis-diacetamide	0,37	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
16	10,55	2-[1-(2-hydroxy-ethyl)-1h-benzoimidazol-2-ylsulfanyl]-acetamide	0,3	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
17	3,09	n-(1-ethyl-1-methyl-2-propynyl)-2-{5-[4-(methylsulfonyl)phenyl]-2h-tetraazol-2-yl}acetamide	0,25	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
18	9,18	2-(3-methoxyphenoxy)-n-(5-methyl-3-isoxazolyl)acetamide	0,23	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
19	7,78	Benzeneacetamide, N-[2-amino-1-[(phenylamino)carbonyl]ethenyl]- (CAS)	0,22	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)

Tabel 25. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *B. subtilis* BB.B4 dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas gugus senyawa aktif (Pustaka rujukan)
1	12,18	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)	0,76	9-Octadecenoic acid	Antijamur dan antibakteri (Ananta et al., 2016); Surya, et al., 2020)
2	11,06	Pentadecanoic acid (CAS)	0,18	Pentadecanoic acid	Antijamur (Surya et al., 2020)
3	5,66	Tetrazole, 1-(4-biphenyl)-5-[2-(1-piperidyl)ethenyl]-	0,32	Tetrazole	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi et al., 2011
4	6,91	1-(p-chlorophenyl)-5-[2-(1-piperidiny)aminovinyl]-1H-tetrazole	0,3	Tetrazole	Antijamur dan antibakteri (Dhayanithi et al., 2011
5	10,81	Propanoic acid, 2-[5-(2-hydroxypropyl)tetrahydrofuran-2-yl]-, 1-[5-(1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)tetrahydrofuran-2-yl]propan-2-yl	0,52	Tetrazole	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso et al., 2021)
6	7,88	Propanoic acid, 2-methyl-2-[[[2-(2-	0,57	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso et al., 2021)
7	7,05	The ethyl ester of 3-cyclohexyl propanoic acid	0,36	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso et al., 2021)
8	3	2-Chloro-benzoic acid N'-[2-(3-oxo-3,4-dihydro-2H-	0,69	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta et al., 2016)
9	2,59	3-[5-(2-nitro-phenyl)-1,3-dioxo-1,3-dihydro-isindol-2-yl]-benzoic acid	0,46	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta et al., 2016)
10	4,21	benzoic acid, 4-[[1-oxo-3-(1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)propyl]amino]-, methyl ester	0,2	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta et al., 2016)
11	9,14	benzoic acid, 4-[5-(4-bromophenyl)-3-[[4-(ethoxycarbonyl)phenyl]amino]-2,5-dihydro-2-oxo-1h-pyrrol-1-yl]-, ethyl ester	0,05	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta et al., 2016)
12	4,43	p-Dihydroartemisininoxymethylbenzoic acid	0,23	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta et al., 2016)
13	9,9	Pentanoic acid, 2-methyl-2-propyl-	0,47	Pentanoic acid	Antibakteri (Surya et al., 2020)
14	2,54	2-hydroxymethyl-3-methyl-oxirane	0,83	Oxirane	Antijamur (Roca-Couso et al., 2021)
15	12,02	N-Didehydrohexacarboxyl-2,4,5-trimethylpiperazine	0,25	piperazine	Antimikroba (Surya et al., 2020)

16	5,27	Phenol, 2-(4-bromo-3-chlorophenyliminomethyl)-	1,03	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
17	5,27	x - octyl - phenol	0,71	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
18	4,64	Phenol, 2-(1-methylpropyl)-4,6-dinitro-, acetate	0,41	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
19	11,15	3-Pyrrolidino-6-(4-bromophenyl)-1,2,4-triazine 4-oxide	0,53	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
20	5,48	1-benzyl-6-bromo-5-hydroxy-2-pyrrolidin-1-ylmethyl-1h-indole-3-carboxylic acid ethyl ester	0,34	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
21	3,26	1-{2'(E)-(Cyclohexen-1"-yl)ethenyl]pyrrolidine	0,2	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
22	2,48	Acetamide, 2,2'-[oxybis(2,1-ethanediylloxy)]bis[N,N-diphenyl-	0,36	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
23	5,65	2-(4-amino-5-methyl-4H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-N-(4-fluoro-phenyl)-acetamide	0,28	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
24	5,14	2-(4-allyl-5-thiophen-2-yl-4H-[1,2,4]triazol-3-ylsulfanyl)-N-(3-fluoro-4-methyl-phenyl)-acetamide	0,21	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
25	6,73	N-hexyl-2-{2-[(hexyl-pentyl-carbamoyl)-methoxy]-ethoxy}-N-pentyl-acetamide	0,2	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
26	10,73	N-[2-(3-acetylamino-2-hydroxy-phenylazo)-phenyl]-acetamide	0,2	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)
27	3,45	Acetic acid, n'-[4,6-di(4-morpholiny)-1,3,5-triazin-2-yl]-n'-methylhydrazide	0,53	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
28	12,32	Acetic acid, trichloro- (CAS)	0,48	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
29	3,38	[(4-methoxy-naphthalene-1-sulfonyl)-methyl-amino]-acetic acid	0,27	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
30	3,01	Acetic acid, 2-(4-bromo-2-cyanophenoxy)-, ethyl ester	0,27	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
31	2,9	Acetic acid, 8-acetoxy-6-benzenesulfonyl-2-thia-6-aza-adamantan-4-yl ester	0,26	Acetid acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
32	10,53	1H-Indole-3-acetic acid, 5-chloro-2-methyl-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester (CAS)	0,26	Indole-3-acetic acid	Hormon tanaman

Tabel 26. Identifikasi senyawa antimikroba dan pemacu pertumbuhan tanaman dari *B. subtilis* BK.A1 dengan GC-MS

No	Waktu retensi	Nama senyawa	Peak area (%)	Gugus senyawa aktif	Aktivitas senyawa aktif (Pustaka rujukan)
1	12,75	1H-Thieno[3,4-d]imidazole-4-propanoic acid, hexahydro-2-oxo-, (3a.alpha.,4.beta.,6a.alpha.)]- (CAS)	1,13	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
2	8,3	3-(ethyl-1,1-D2-thio)propanoic acid	0,58	Propanoic acid	Penekanan pertumbuhan miselium (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
3	6,46	2-hydroxy-5-[(6-methoxy-2-methyl-4-quinoliny)amino]benzoic acid	0,55	Benzoic acid	Antimikroba (Ananta <i>et al.</i> , 2016)
4	5,25	3,3'-dicyclohexyl-5-(3-methyl-3H-benzothiazol-2-ylidene)-2'-thioxo-[2,5']bithiazolidinylidene-4,4'-dione	0,23	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
5	12,06	Di-2-benzothiazole disulfane	0,12	benzothiazol	Menghambat pertumbuhan miselium jamur (Gao <i>et al.</i> , 2018)
6	9,54	Phenol, 2-amino-4-nitro- (CAS)	0,73	Phenol	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
7	10,74	Phenol, 4-nitro-2-(1,2,4-triazol-3-yl)iminomethyl-	0,52	Phenol,	Antijamur (Surya <i>et al.</i> , 2020)
8	4,84	3-Azabicyclo[3.3.1]nonan-9-ol, 3-methyl-6-(1-pyrrolidinyl)-, (exo,anti)- (CAS)	0,88	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
9	9,49	Pyrrolidine, 1-(1-oxo-7,10-octadecadienyl)- (CAS)	0,82	pyrrolidin	Antibakteri dan antijamur (Arslan <i>et al.</i> , 2006)
10	5,27	N-(4-Chlorophenyl)-a-pyrrolidinomaleimide	0,47		
11	6,32	Butanoic acid, 2,3-dibromo-, ethyl ester (CAS)	0,28	Butanoic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
12	13,16	Butanoic acid, 2-[(trimethylsilyl)amino]-4-[[[(trimethylsilyl)oxy]methyl]phosphinyl]-, trimethylsilyl ester, (S)- (CAS)	0,14	Butanoic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
13	7,02	Propanedioic acid, monocyclohexyl ester	0,44	Propanedioic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)

14	10,48	Oxirane, tetradecyl-	0,27	Oxirane	Antijamur (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)
15	7,12	Copper, bis(4-chloro-3,5-cyclohexadiene-1,2-dione 2-oximato-N2,O1)- (CAS)	0,75	cyclohexadiene	Antimikroba (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)(Nair & Padmavathy, 2014)
16	9,21	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2-(3,4-dihydro-5-hydroxy-7-methoxy-4 (CAS)	0,39	cyclohexadiene	Antimikroba (Roca-Couso <i>et al.</i> , 2021)(Nair & Padmavathy, 2014)
17	6,81	2,6-Dihydroxybenzaldehyde, carbamoylhydrazone	0,14	Benzaldehyde	Menghambat perkecambahan spora (Kai <i>et al.</i> , 2009)
18	2,78	Acetic acid, 7-oxo-2-(toluene-4-sulfonyloxy)-bicyclo[3.3.1]non-9-yl ester	0,83	Acetic acid	Antimikroba (Surya <i>et al.</i> , 2020)
19	7,59	acetamide, n-(2-chloro-4-methoxyphenyl)-2-(3,4-diethoxyphenyl)-	0,62	Acetamide	Menghambat pertumbuhan miselium (Kai <i>et al.</i> , 2009)

Hasil analisis menunjukkan adanya keragaman dari bakteri antagonis dalam menghasilkan jenis dan persentase *peak area* gugus senyawa aktif, yang berperan dalam pengendalian patogen dan pemacu pertumbuhan tanaman (Tabel 27). Jenis dan besarnya persentase dari senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri antagonis diduga akan sangat berpengaruh terhadap kemampuannya dalam mengendalikan patogen dan memacu pertumbuhan tanaman. Berdasarkan data Tabel 26, *B. amyloliquefaciens* BB.R3 merupakan jenis bakteri antagonis yang menghasilkan jenis metabolit sekunder yang paling banyak. Namun, berdasarkan luas *peak area*-nya, *B. subtilis* BB.B4 menghasilkan persentase jumlah senyawa aktif paling banyak.

Tabel 27. Jumlah dan luas *peak area* dari gugus senyawa aktif metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri antagonis

Bakteri antagonis	Jumlah gugus senyawa aktif (jenis)	Luas <i>peak area</i> (%)
<i>P. putida</i> BB.R1	15	7,40
<i>P. putida</i> PPD.B	14	6,62
<i>B. amyloliquefaciens</i> BB.R3	17	7,46
<i>B. subtilis</i> BK.R5	10	4,27
<i>B. subtilis</i> BB.B4	14	13,45
<i>B. subtilis</i> BK.A1	12	7,28

D. Simpulan

1. Identifikasi molekul bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar BB.R1 dan *Pseudomonas* kelompok pendar PPD.B5 merupakan spesies *Pseudomonas putida*; *Bacillus* sp. BB.R3 merupakan spesies *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus* sp. BK. R5; *Bacillus* sp. BB.B4 serta *Bacillus* sp. BK.A1 merupakan spesies *Bacillus subtilis*.
2. Bakteri antagonis menghasilkan berbagai senyawa pengendali hayati (asetamida, asam asetat, asam propanoat, asam benzoat, benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan

asam pentanoat tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9-oktadesenoat, sikloheksadiena, 9-oktadesenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadecanoat, dan oksiran); senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol); dan senyawa penginduksi ketahanan tanaman (benzothiazol dan butanediol).

VI. PEMBAHASAN UMUM

Rangkaian kegiatan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit spesifik pada tanaman jagung, yang mampu mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung dan adaptif terhadap lingkungan baik di dataran rendah-menengah maupun dataran tinggi, telah dilakukan. Tahapan penelitian meliputi kegiatan isolasi; identifikasi morfologi, biokimia dan molekul, pengujian kemampuan bakteri dalam mengendalikan jamur *R. solani* *in vitro* dan *in planta*, serta mekanisme yang dimiliki oleh bakteri tersebut.

Bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar dan *Bacillus* sp. berhasil diisolasi dari rizosfer dan endofit tanaman jagung sehat berumur 20-30 hari setelah tanam, baik di dataran rendah-menengah ataupun dataran tinggi. Pencirian dilakukan terhadap 52 bakteri *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* kelompok pendar asal rizosfer dan endofit hasil isolasi sehingga diperoleh enam isolat bakteri yang berpotensi sebagai agensia pengendali hayati penyakit hawar pelepah berdasarkan hasil pengujian *in vitro* dan rumah kaca. Keenam bakteri tersebut adalah *Pseudomonas putida* BB.R1, *Pseudomonas putida* PPD.B5, *Bacillus amyloliquefaciens* BB.R3, *Bacillus subtilis* BK. R5; *Bacillus subtilis* BB.B4; dan *Bacillus subtilis* BK.A1.

Penentuan spesies bakteri rizosfer dan endofit dilakukan berdasarkan hasil pengkarakteran morfologi, biokimia, dan molekul. Hal ini mengingat penentuan spesies bakteri sangat sukar dilakukan jika hanya berdasarkan karakter fenotip saja (Fan *et al.*, 2017). Hasil pengamatan karakter morfologi dan biokimia bakteri *Pseudomonas* kelompok pendar hasil isolasi menunjukkan karakter yang hampir sama. Pada medium King's B, bakteri mempunyai koloni membulat, dengan tepi rata, memiliki warna kuning kehijauan, dan berpendar pada medium Kings B di

bawah lampu ultraviolet. Bakteri berbentuk batang, tidak berspora, Gram negatif, oksidase dan katalase positif. Hasil yang sama juga ditunjukkan oleh isolat bakteri dari genus *Bacillus* sp. Secara umum, genus *Bacillus* sp. mempunyai koloni bulat, bentuk sel batang, membentuk endospora dalam sel, Gram positif, dan katalase positif. Berdasarkan karakter morfologi dan biokimia tersebut, sukar untuk menentukan jenis spesies dari genus *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* maupun *Bacillus*. Oleh karena itu, identifikasi dan taksonomi bakteri ke dalam suatu spesies harus menggabungkan karakter fenotip dan genotip, termasuk morfologi, biokimia, fisiologi, dan kesamaan urutan 16S rRNA (Rossi-Tamisier *et al.* 2015).

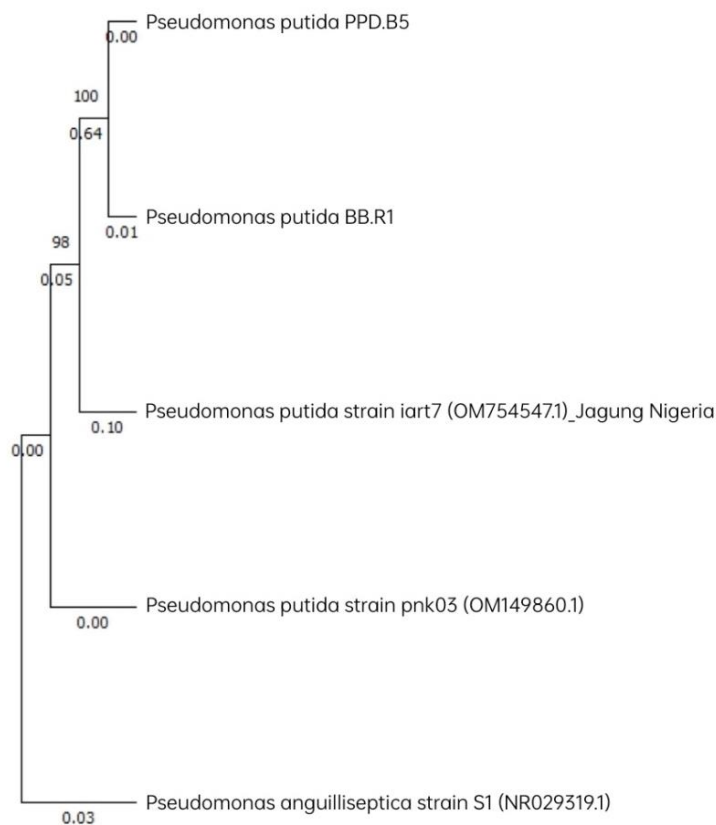
Sekuens gen 16S rRNA merupakan penanda genetika yang paling umum digunakan untuk mempelajari filogeni dan taksonomi bakteri, karena keberadaannya di hampir semua bakteri dan fungsi gen 16S rRNA yang relatif tidak berubah dari waktu ke waktu. (Brahmbhatt, 2014). Urutan gen 16S rRNA juga menunjukkan hubungan evolusi dari strain bakteri dengan masing-masing genus (Naveed *et al.*, 2014). Ambang kesamaan urutan yang saat ini direkomendasikan untuk mengklasifikasikan isolat bakteri adalah 95 % untuk genus dan 98,7 % untuk spesies (Rossi-Tamisier *et al.*, 2015). Berdasarkan kesamaan urutan gen 16S rRNA, bakteri antagonis rizosfer dan endofit jagung hasil isolasi mempunyai kesamaan urutan lebih dari 99 % dengan bakteri referensi, sehingga dapat ditentukan spesies dari bakteri hasil isolasi.

Analisis filogenetika merupakan salah satu metode yang paling sering digunakan dalam sistematika untuk memahami keanekaragaman makhluk hidup melalui rekonstruksi hubungan kekerabatan (*phylogenetic relationship*) (Hidayat & Pancoro, 2008). Hasil analisis filogenetik terhadap bakteri antagonis (hasil isolasi) dan strain bakteri pembanding dilakukan dengan program Molecular Evolutionary

Genetics Analysis11(MEGA11) dengan hasil berupa pohon filogenetik (Tamura *et l.*, 2021). Pohon filogenetik dibentuk menggunakan metode Maximum Likelihood dan model Tamura-Nei dan dievaluasi dengan metode bootstrap (1000 kali ulangan) sehingga diperoleh pohon filogenetik seperti pada Gambar 16 dan 17. Nilai bootsrap ditunjukkan pada angka- angka yang terdapat pada cabang-cabang (node) pohon filogenetik. Nilai tersebut menunjukkan kekokohan atau ketepatan analisis suatu pohon filogenetik.

Berdasarkan gambar 16, isolat *P. putida* PPD.B5 dan *P. putida* BB.R1. (hasil isolasi) berada dalam satu klade, sehingga kedua isolat tersebut memiliki kekerabatan yang erat, dengan nilai bootstrap 100. Selanjutnya kedua isolat tersebut membentuk klade baru dengan *P. putida* strain iart7 asal tanaman jagung (Negeria). Hal ini menunjukkan bahwa isolat *P. putida* PPD.B5 dan *P. putida* BB.R (hasil isolasi) mempunyai kekerabatan yang lebih dekat dengan *P. putida* strain iart7. *P. putida* strain pnk03 asal rizosfer bambu (Indonesia) berada di luar klade tersebut, sehingga kedua isolat *P. putida* (hasil isolasi) dan isolat *P. putida* strain pnk03 asal rizosfer bamboo (Indonesia) mempunyai kekerabatan yang lebih jauh.

Pada analisis filogenetik *P. putida* (Gambar 16), *P. putida* membentuk satu kelompok yang terpisah dengan *P. anguiliseptica* sebagai out group. Hal ini dikarenakan *P. putida* dan *P. anguiliseptica* termasuk ke dalam 2 sub kelompok yang berbeda dalam pengelompokkan genus *Peudomonas*. Menurut Gomila *et al.* (2015), genus *Pseudomonas* dikelompokkan ke dalam 19 sub kelompok, yaitu sub kelompok *P. flourescens*, *P. geesardii*, *P. fragi*, *P. jessenii*, *P. koreensis*, *P. mandelii*, *P. cholroraphis*, *P. coorugata*, *P.syringae*, *P. lutea*, *P.asplenii*, *P. putida*, *P. anguliseptica*, *P. straminea*, *P.aeruginosa*, *P. oleovorans*, *P.oryzihabitans*, *P. stutzeri* dan *P. pertucinogena*.



Gambar 16. Hubungan kekerabatan isolat *P. putida* PPD.B5 dan BB.R1 dengan isolat pembanding berdasarkan urutan basa gen 16S rRNA. Keterangan: pohon filogenetik disusun dengan menggunakan metode Maximum Likelihood, Model Tamura-Nei. Bootstrapping dilakukan sebanyak 1000 kali pada program MEGA11.

Pada analisis filogenetik kelompok *Bacillus* (Gambar 17), isolat *B. subtilis* BK.R5 dan BK.A1 memiliki kekerabatan yang kuat dengan nilai bootstrap 100, namun mempunyai kekerabatan yang lebih jauh dengan isolat pembanding *B. subtilis* strain SSR4 asal padi (Indonesia) dan *B. subtilis* strain 290 asal jagung (Brazil). Isolat *B. subtilis* BB.B4 dan *B. amyloliquefaciens* BB.R3, berada satu kelompok dengan isolat pembandingnya baik yang berasal dari Indonesia ataupun luar negeri dengan nilai bootstrap 94. *B. amyloliquefaciens* BB.R3 lebih dekat kekerabatannya dengan *B. amyloliquefaciens* strain BA31 yang diisolasi dari pertanaman jagung di Cina, dibandingkan *B. amyloliquefaciens* strain Er C22 yang diisolasi dari pertanaman padi lahan salin di Indonesia. Sementara itu, untuk *B. subtilis* BB.B4

lebih dekat kekerabatannya dengan *B. amyloliquefaciens* strain Er. C22 yang diisolasi dari pertanaman padi lahan salin Indonesia, dibandingkan dengan isolat *B. subtilis* strain 290 (jagung-Brazil) ataupun strain SSR4 (padi-Indonesia). Menurut Fan *et al.* (2017), *B. subtilis* dan *B. amyloliquefaciens* mempunyai kekerabatan yang sangat erat, dan urutan 16S rRNA saja seringkali tidak cukup untuk membedakan perwakilan spesies *B. subtilis* kompleks. Perbandingan urutan rRNA 16S dari *B. amyloliquefaciens* DSM7T dan *B. subtilis* 168T mencapai 99,48%. Lebih lanjut disampaikan bahwa untuk menjelaskan hubungan filogenetik dan taksonomi yang lebih tepat dari anggota kelompok spesies *B. subtilis* dan *B. amyloliquefaciens* adalah menggunakan dua metode yaitu (i) *Tetra correlation search (TCS)* dari genom lengkap DSM7T dan (ii) gen RNA polimerase beta-subunit (*rpoB*) dari genom lengkap DSM7T. Menurut Wang & Sung (2009), berdasarkan hubungan antara filogeni dan taksonomi dari spesies *Bacillus*, *B. subtilis* dan *B. amyloliquefaciens* termasuk ke dalam kelompok yang sama, yaitu kelompok 1 dari 9 pengelompokan spesies *Bacillus*. *Paenibacillus polymyxa* strain IAM 13419 berada terpisah dan sebagai out group dari kelompok *B. subtilis* dan *B. amyloliquefaciens*.

Bacillus sp. BB.B4 dalam menekan penyakit sudah mampu menyamai kemampuan fungisida (fluopikolid 6 % +propineb 67 %) (Tabel 12).

Penekanan penyakit oleh bakteri antagonis diduga berhubungan dengan kemampuan bakteri antagonis dalam menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang dapat mengganggu pertumbuhan jamur. Beberapa senyawa tersebut di antaranya berbagai jenis enzim pelisis sel jamur (enzim kitinase, protease, lipase, sellulase), HCN, siderofor, dan berbagai senyawa metabolit *volatil* yang terdeteksi pada analisis dengan GC-MS. Enzim kitinase dapat mendegradasi kitin, yang merupakan penyusun dinding sel jamur, sehingga adanya enzim kitinase akan mendegradasi dinding sel jamur patogen (Singh *et al.*, 1999; Veliz *et al.*, 2017). Enzim protease dapat mendegradasi protein dinding sel jamur dan enzim lipase dapat mendegradasi beberapa lipid yang berhubungan dengan dinding sel. Kombinasi keduanya dapat membantu melisiskan sel jamur. Enzim ekstrasel protease juga berperan dalam menghambat berbagai komunitas bakteri dan jamur patogen dan menonaktifkan senyawa racun yang dihasilkan patogen (Anderson *et al.*, 2004; Farooq & Bano, 2013).

Siderofor yang dihasilkan bakteri antagonis akan membatasi perolehan besi oleh jamur patogen, sehingga mencegah perkembangbiakan dan virulensinya (Burbank *et al.*, 2015). Siderofor juga erat kaitannya dengan kemampuan persaingan yang tinggi yang dimiliki oleh bakteri antagonis (Ahmed & Holmström, 2014). HCN berperan dalam pembatasan pertumbuhan mikroba, dengan menghambat sitokrom C oksidase, yang merupakan bagian rantai respirasi mitokondria serta metalloenzim penting lainnya (Flury *et al.*, 2017).

Kemampuan bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit juga dipengaruhi adanya senyawa metabolit *volatil* bakteri yang terdeteksi dari hasil

analisis dengan menggunakan GC-MS. Setidaknya terdapat 24 jenis senyawa yang diduga berperan dalam pengendalian hayati patogen yaitu asetamida, asam asetat, asam propanoat, asam benzoat, benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan asam pentanoat tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9-oktadesenoat, sikloheksadiena, 9-oktadesenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadecanoat, dan oksiran.

Di antara senyawa yang terdeteksi GC-MS, terdapat beberapa senyawa yang dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan miselium jamur di antaranya asam propanoat, benzothiazol, asetamida, oktanol, dan tetrazol. Penghambatan pertumbuhan jamur ini terlihat pada hasil pengujian *in vitro*. Miselium jamur yang berada di sekitar zona hambat menunjukkan adanya degradasi (Gambar 7). Rusak atau lisisnya miselium diduga juga dipengaruhi oleh enzim hidrolisis dan senyawa toksin yang dihasilkan *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Menurut Pal & McSpadden Gardener (2006), Heydari & Pessarakli (2010) serta Junaid *et al.*, (2013), *Bacillus* dan *Pseudomonas* dilaporkan menghasilkan sejumlah enzim hidrolisis, yang akan berpengaruh pada aktivitas hiperparasit. Hiperparasit melibatkan pertumbuhan agensia pengendali hayati pada organisme target, dan menyebabkan rusaknya dinding dan sel patogen sasaran (Pal & Mc Spadden Gardener, 2006).

Beberapa senyawa metabolit sekunder dilaporkan dapat mengimbas ketahanan tanaman. Senyawa benzothiazol dan butanediol dilaporkan dapat mengimbas ketahanan tanaman. Benzothiazol dan butanediol dapat mengimbas ketahanan tanaman melalui ekspresi gen untuk protein terkait patogenesis (PR-protein) (Cortes-Barco *et al.*, 2010).

Kemampuan bakteri antagonis dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah menyebabkan tanaman dapat tumbuh dengan lebih baik, karena tanaman mampu

melakukan proses metabolisme dan fisiologinya dengan baik. Hal ini dapat dilihat dari besarnya penekanan intensitas penyakit yang sejalan dengan peningkatan pertumbuhan tanaman. (Tabel 28). Kemampuan bakteri antagonis untuk memacu pertumbuhan tanaman, juga berhubungan dengan kemampuan bakteri tersebut untuk menghasilkan senyawa atau metabolit yang mendukung untuk pertumbuhan tanaman. Bakteri antagonis mampu membantu melarutkan fosfat, menghasilkan siderofor, menghasilkan hormon IAA, memacu pertumbuhan benih jagung, meningkatkan perakaran tanaman ataupun menghasilkan senyawa metabolit *volatil* yang terdeteksi oleh GC-MC. Beberapa senyawa metabolit sekunder yang terdeteksi GC-MS yang dihasilkan bakteri antagonis dan diduga berkaitan dengan kemampuannya dalam memacu pertumbuhan tanaman di antaranya L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol.

Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat akan mengubah fosfat organik dan anorganik yang tidak larut menjadi bentuk yang dapat dengan mudah diakses oleh tanaman (Hassan, 2017). Tryptophan merupakan prekursor utama untuk biosintesis IAA pada bakteri (Spaepen *et al.*, 2007). IAA merupakan hormon pada tanaman yang mengatur pertumbuhan dan perkembangan seperti pembelahan dan pemanjangan sel, diferensiasi jaringan, dominasi apikal, dan respons terhadap cahaya, gravitasi, dan patogen. IAA terlibat dalam interaksi patogen tanaman pada akhirnya akan meningkatkan panjang dan luas permukaan akar, dan meningkatkan nutrisi tersedia untuk diserap oleh tanaman dan modifikasi mekanisme pertahanan tanaman (Fu *et al.*, 2015), Gupta *et al.*, 2015; Olanrewaju *et al.*, 2017).

Giberelin merupakan hormon yang berfungsi dalam pembentukan dan pengembangan organ reproduksi dan pematangan buah dan biji. Giberelin dapat merangsang perkecambahan biji, pertumbuhan tanaman, pembungaan dan

pembuahan, mengatur pembelahan dan pemanjangan sel, merangsang hipokotil dan pertumbuhan batang (Radhakrishnan & Lee, 2016; Tsukanova *et al.*, 2017). Butanediol merupakan komponen bakteri penting yang bertanggung jawab untuk sinyal kimia di udara yang memacu pertumbuhan tanaman (Ryu *et al.*, 2003; Caulier *et al.*, 2018).

Jenis dan banyaknya mekanisme yang dimiliki oleh bakteri antagonis diduga akan berpengaruh terhadap kemampuan bakteri tersebut dalam mengendalikan penyakit ataupun meningkatkan pertumbuhan tanaman. Berdasarkan ringkasan hasil pengujian (Tabel 28). *B. subtilis* BB.B4 merupakan jenis bakteri antagonis yang mampu mengendalikan penyakit hawar pelepah dan meningkatkan pertumbuhan terbaik, diikuti *B. amyloliquefaciens* BB.R3 dan *P. putida* BB.R1. Hasil ini diduga berhubungan dengan jenis dan jumlah metabolit sekunder yang dihasilkan. Ketiga bakteri tersebut menghasilkan jenis dan luas peak areanya relatif lebih tinggi daripada lainnya. *B. subtilis* BK.R5 mempunyai kemampuan penekanan penyakit hawar pelepah terendah mempunyai jenis dan luas peak area terendah pula.

Tabel 28. Ringkasan hasil pengujian kemampuan enam bakteri antagonis asal rizosfer dan endofit untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung

Bakteri	Penekanan pertumbuhan jamur <i>in vitro</i>	Pengujian <i>in planta</i>			Kemampuan menghasilkan enzim pelisis, siderofor dan hormon	Jumlah senyawa aktif (jenis)	Luas <i>peak area</i> (%)
		Penekanan IP	Penekanan ADPC	Peningkatan pertumbuhan			
<i>P. putida</i> BB.R1	54,67	71,43	70,21	21,55	Pektinase, selulase, kitinase, siderofor, pelarut fosfat, IAA	15	7,40
<i>P. putida</i> PPD.B5	68,20	42,87	53,19	4,81	Kitinase, siderofor, HCN, pelarut fosfat, IAA	14	6,62
<i>B. amyloliquefaciens</i> BB.R3	69,92	71,43	78,72	14,96	Protease, lipase, selulase, kitinase, siderofor, HCN, pelarut fosfat, IAA	17	7,46
<i>B. subtilis</i> BK.R5	68,10	50,00	51,06	2,49	Protease, lipase, pektinase, selulase, kitinase, siderofor, HCN, pelarut fosfat, IAA	10	4,27
<i>B. subtilis</i> BB.B4	68,20	85,69	87,23	26,33	Protease, lipase, pelarut fosfat, IAA pektinase, selulase. HCN	14	13,45
<i>B. subtilis</i> BK.A1	55,39	57,13	70,21	7,14	Protease, lipase, selulase, HCN	12	7,28

VII. KESIMPULAN UMUM

1. Berdasarkan hasil pengujian *in vitro*, kemampuan menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan jamur dan senyawa pemacu pertumbuhan tanaman, serta pegujian rumah kaca, diperoleh enam isolat bakteri yang berpotensi sebagai agensia pengendali hayati penyakit hawar pelepah, yaitu *Pseudomonas putida* BB.R1, *Pseudomonas putida* PPD.B5, *Bacillus amyloliquefaciens* BB.R3, *Bacillus subtilis*. BK. R5; *Bacillus subtilis* BB.B4; dan *Bacillus subtilis* BK.A1.
2. Bakteri antagonis mampu menghasilkan senyawa metabolit yang mampu menghambat jamur patogen seperti, enzim hidrolisis (protease, lipase, selulase, kitinase), siderofor, HCN; serta senyawa pemacu pertumbuhan tanaman, seperti enzim pelarut fosfat dan hormon IAA, dengan kemampuan yang beragam.
3. Bakteri antagonis menghasilkan berbagai senyawa volatile pengendali hayati (asetamida, asam asetat, asam propanoat, asam benzoat, benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan asam pentanoat tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9- oktadesenoat, sikloheksadiena, 9-oktadesenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadecanoat, dan oksiran); senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol); dan senyawa pengimbas ketahanan tanaman (benzothiazol dan butanediol).
4. *Bacillus subtilis* BB.B4 merupakan bakteri antagonis terbaik dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung dengan menunda masa inkubasi, menurunkan intensitas penyakit 85,69 % dan AUDPC 87,23 %, serta mampu meningkatkan pertumbuhan jagung antara 12,62-40,49 %.

RINGKASAN

Jagung merupakan salah satu komoditas penting dalam sistem ketahanan pangan maupun perannya sebagai penggerak perekonomian nasional. Produksi jagung di Indonesia selama 3 tahun terakhir (tahun 2017-2019) mengalami fluktuasi dan cenderung mengalami penurunan. Upaya meningkatkan produksi jagung di Indonesia seringkali mengalami beberapa kendala, di antaranya adanya serangan *Rhizoctonia solani* Kühn, penyebab penyakit hawar pelepah. Pengendalian menggunakan varietas tahan dan rotasi tanaman terkendala terbatasnya sumber genetik tahan dan banyaknya inang *R. solani*. Pengendalian dengan menggunakan kimia seringkali tidak efektif untuk patogen tular-tanah, karena patogen mampu membentuk struktur istirahat, serta dapat berdampak negatif terhadap lingkungan. Pengendalian hayati, dengan bakteri antagonis indigenous jagung diharapkan dapat digunakan untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung. Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mendapatkan bakteri rizosfer dan endofit yang efektif untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah tanaman jagung, sebagai upaya pengendalian penyakit yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Perlindungan Tanaman Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto, Rumah Kaca Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto, Laboratorium Genetika Science, Tangerang Banten, dan Laboratorium Kimia Analisis, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah, Purwokerto. Penelitian terdiri dari empat tahap penelitian meliputi 1. Isolasi dan pengkarakteran bakteri antagonis rizosfer dan endofit, serta potensinya untuk mengendalikan jamur *Rhizoctonia solani* Khun; 2. Mekanisme bakteri rizosfer dan endofit sebagai pengendali hayati dan pemacu pertumbuhan tanaman; 3. Uji kemampuan bakteri rizosfer dan endofit untuk mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung *in planta*; dan 4. Identifikasi molekul serta analisis senyawa metabolit sekunder bakteri rizosfer dan endofit jagung.

Dari hasil penelitian telah diperoleh 52 isolat *Bacillus* sp dan *Pseudomonas* kelompok pendar asal rizosfer dan endofit jagung dataran rendah-menengah dan dataran tinggi. Berdasarkan hasil pengujian *in vitro*, kemampuan menghasilkan senyawa penghambat pertumbuhan jamur dan senyawa pemacu pertumbuhan tanaman, serta pegujian rumah kaca, diperoleh enam isolat bakteri yang berpotensi sebagai agensia pengendali hayati penyakit hawar pelepah. Keenam bakteri tersebut adalah *Pseudomonas putida* BB.R1, *Pseudomonas putida* PPD.B5, *Bacillus amyloliquefaciens* BB.R3, *Bacillus subtilis*. BK. R5; *Bacillus subtilis* BB.B4; dan *Bacillus subtilis* BK.A1. Bakteri antagonis mampu menghasilkan senyawa metabolit yang mampu menghambat jamur patogen seperti, enzim hidrolisis (protease, lipase, selulase, kitinase), siderofor, HCN; serta senyawa pemacu pertumbuhan tanaman, seperti enzim pelarut fosfat dan hormon IAA, dengan kemampuan yang beragam. Bakteri antagonis menghasilkan berbagai senyawa volatile pengendali hayati (asetamida, asam asetat, asam propanoat, asam benzoat, benzothiazol, fenol, pyrrolidin, dan asam pentanoat tetrazol, pyrazin, piperazin, sikloheksanol, asam 9-oktadesenoat, sikloheksadiena, 9-oktadesenoat, pyrrolo, asam butanoat, oktanol, benzaldehida, asam propanedioat, heptanon, asam pentadecanoat, dan oksiran); senyawa pemacu pertumbuhan tanaman (L-tryptophan, IAA, gibberellin, dan butanediol); dan senyawa pengimbas ketahanan tanaman (benzothiazol dan butanediol). *Bacillus subtilis* BB.B4 merupakan bakteri antagonis terbaik dalam mengendalikan penyakit hawar pelepah jagung dengan menunda masa inkubasi, menurunkan intensitas penyakit 85,69 % dan AUDPC 87,23 %, serta mampu meningkatkan komponen pertumbuhan tanaman jagung antara 12,62-40,49 %.

SUMMARY

Maize is one of the essential commodities in the food security system and its role in the national economy. Over the past three years (2017-2019), maize production in Indonesia has fluctuated and tends to decline. Efforts to increase maize production in Indonesia experienced several obstacles, including the attack of *Rhizoctonia solani* Kühn, the cause of sheath blight disease. Control using resistant varieties and crop rotation is constrained by the limited genetic resources of resistant and the number of *R. solani* hosts. Chemical control is often ineffective for soil-borne pathogens, as pathogens can form resting structures and negatively impact the environment. Biological control, with antagonistic bacteria from indigenous maize, can be used to control maize sheath blight. This study aimed to obtain effective rhizospheric and endophytic bacteria to control the blight of maize crops as an environmentally friendly and sustainable disease control effort.

The research was carried out at the Laboratory of Plant Protection at Jenderal Soedirman University, Purwokerto, Greenhouse, Faculty of Agriculture, Jenderal Soedirman University, Purwokerto, Genetics Science Laboratory, Tangerang Banten, and Analytical Chemistry Laboratory, Faculty of Pharmacy, University of Muhammadiyah, Purwokerto. The research consisted of four research stages, including 1. Isolation and characterization of rhizospheric and endophytic antagonist bacteria, and their potential to control *Rhizoctonia solani* Khun; 2. The mechanism of rhizospheric and endophytic bacteria as biological controllers and plant growth promoters; 3. Test the ability of rhizospheric and endophytic bacteria to control maize sheath blight in planta; and 4. Molecular identification and analysis of secondary metabolites compounds of maize rhizospheric and endophytic bacteria.

The isolation of rhizospheric and endophytic antagonist bacteria from maize in the low-medium and highlands obtained 52 isolates of *Bacillus* sp. and fluorescent *Pseudomonad*. Based on the results of in vitro testing, the ability to produce fungal growth-inhibiting compounds and plant growth-promoting compounds, as well as greenhouse bars, obtained six bacterial isolates that have the potential to be biological control agencies for sheath blight disease. The six bacteria are *Pseudomonas putida* BB.R1, *Pseudomonas putida* PPD.B5, *Bacillus amyloliquefaciens* BB.R3, *Bacillus subtilis*.BK.R5; *Bacillus subtilis* BB.B4; and *Bacillus subtilis* BK. A1. Antagonistic bacteria can produce metabolite compounds that inhibit pathogenic fungi such as hydrolysis enzymes (proteases, lipases, cellulase, chitinase), siderophores, and HCN as plant growth-boosting compounds, such as phosphate solvent enzymes and IAA hormones, with diverse abilities. Antagonistic bacteria produce a variety of biologically controlling volatile compounds (acetamide, acetic acid, propanoic acid, benzoic acid, benzothiazole, phenol, pyrrolidine, pentanoic acid, tetrazole, pyrazin, piperazine, cyclohexanol, 9-octadecanoic acid, cyclohexadiene, 9-octadecenoic, pyrrolo, butanoic acid, octanol, benzaldehyde, propanedioic acid, heptanone, pentadecanoic acid, and oxirane); plant growth-boosting compounds (L-tryptophan, IAA, gibberellin, and butanediol); and plant resistance-inducing compounds (benzothiazole andbutanediol). *Bacillus subtilis* BB. B4 is the best antagonistic bacterium in controlling maize sheath blight by delaying the incubation period, reducing disease intensity by 85.69% and AUDPC by 87.23%, and increasing the growth component of maize between 12.62-40.49%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aa, L., Bramhankar, S. B., Pillai, T. S., Isokar, S. S., Dinkwar, G. T., Bhure, S. S., & Kharat, V. M. (2019). Biochemical and physiological characterizations of *Pseudomonas fluorescens*. *International Journal of Chemical Studies*, 7(1), 1785–1788.
- Abed, H., Rouag, N., Mouatassem, D., & Rouabhi, A. (2016). Screening for *Pseudomonas* and *Bacillus* antagonistic rhizobacteria strains for the biocontrol of Fusarium wilt of chickpea. *Eurasian Journal of Soil Science*, 5(3), 182–191.
- Abidin, Z., Luqman, Q. A., & Abdul, L. A. (2015). Pengaruh bakteri *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. terhadap pertumbuhan jamur patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab penyakit rebah semai pada tanaman kedelai. *Jurnal HPT*, 3(1), 1–10.
- Abreu, C. S. De, Figueiredo, J. E. F., Oliveira, C. A., Santos, V. L., & Gomes, E. A. (2016). Maize endophytic bacteria as mineral phosphate solubilizers. *Genetics and Molecular Research*, 16(1), 1–13. <https://doi.org/10.4238/gmr16019294>.
- Afzal, I., Shinwari, Z. K., Sikandar, S., & Shahzad, S. (2019). Plant beneficial endophytic bacteria: Mechanisms, diversity, host range and genetic determinants. *Microbiological Research*, 221: 36–49. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2019.02.001>.
- Ahanger, R., Bhatand, H. A., & Dar, N. A. (2014). Biocontrol agents and their mechanism in plant disease management. *Sciencia Acta Xaveriana An International Science Journal*, 5(1), 47–58.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2014). Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University - Science*, 26, 1–20. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2013.05.001>.
- Ahmadzadeh, M., & Tehrani, A. S. (2009). Evaluation of fluorescent pseudomonads for plant growth promotion, antifungal activity against *Rhizoctonia solani* on common bean, and biocontrol potential. *Biological Control: Theory and Applications in Pest Management*, 48(2), 101–107.
- Ahmed, E., & Holmström, S. J. M. (2014). Siderophores in environmental research: Roles and applications. *Microbial Biotechnology*, 7(3), 196–208. <https://doi.org/10.1111/1751-7915.12117>.
- Ahuya, S. C., & Payak, M. M. (1983). A rating scale for banded leaf and sheath blight of maize. *Indian Phytopathology* 36, 338–340.
- Ajayi-Oyetunde, O. O., & Bradley, C. A. (2018). *Rhizoctonia solani*: taxonomy, population biology and management of rhizoctonia seedling disease of soybean. *Plant Pathology*, 67(1), 3–17. <https://doi.org/10.1111/ppa.12733>.
- Akhtar, J., Kumar Jha, V., & Chandra Lal, H. (2011). Post-infectional phenolic changes in maize due to *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii* causing banded leaf and sheath blight. *Indian Phytopathology*, 64(3), 261–264.

- Aktar, W., Sengupta, D., & Chowdhury, A. (2009). Impact of pesticides use in agriculture: Their benefits and hazards. *Interdisciplinary Toxicology*, 2(1), 1–12. <https://doi.org/10.2478/v10102-009-0001-7>.
- Al-Fadhal, F. A., AL-Abedy, A. N., & Alkhafije, D. A. (2019). Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their control feasibility by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0145-5>.
- Ambarsari, A. D. P. (2019). *Efektivitas Penekanan Penyakit Hawar pelepah Padi oleh Bakteri Endofit Isolat Artemisia*. Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/211769572.pdf>.
- Ananta, P. S., Deventhiran, M., Saravanan, P., Anand, D., & Rajarajan, S. (2016). A comparative GC-MS analysis of bacterial secondary metabolites of *Pseudomonas* species. *The Pharma Innovation Journal*, 5(4), 84–89.
- Anderson, L. M., Stockwell, V. O., & Loper, J. E. (2004). An extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* inactivates antibiotics of *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology*, 94(11), 1228–1234. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.2004.94.11.1228>.
- Ariyanti, A. E. L., Suriani, & Wahab, S. S. (2021). Potensi Mikroba Antagonis *Bacillus cereus* dan *Trichoderma* sp . terhadap patogen penting tanaman jagung. *Tarjih Agriculture System Journal*, 01(1), 23–29.
- Arora, N. K., Kim, M. J., Kang, S. C., & Maheshwari, D. K. (2007). Role of chitinase and β -1,3-glucanase activities produced by a fluorescent pseudomonad and in vitro inhibition of *Phytophthora capsici* and *Rhizoctonia solani*. *Canadian Journal of Microbiology*, 53(2), 207–212. <https://doi.org/10.1139/w06-119>.
- Arslan, S., Loğoğlu, E., & Öktemer, A. (2006). Antimicrobial activity studies on some piperidine and pyrrolidine substituted halogenobenzene derivatives. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 21(2), 211–214. <https://doi.org/10.1080/14756360600563063>.
- Arvan, R., & Aqil, M. (2020). *Deskripsi Varietas Unggul Jagung, Sorgum dan Gandum*. Balai Penelitian Tanaman Serealia Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian Kementerian Pertanian.
- Arwiyanto, T., Maryudani, Y. M. S., Nurul, N., & Azizah. (2007). Sifat-sifat fenotipik *Pseudomonas fluorescens*, agensia pengendalian hayati penyakit lincat pada tembakau temanggung. *Biodiversitas*, 8(2), 147 – 151.
- Asmoro, P. P., & Munif, A. (2020). Bakteri endofit dari tumbuhan paku-pakuan sebagai agens hayati *Rhizoctonia solani* dan pemacu pertumbuhan tanaman padi. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 15(6), 239–247. <https://doi.org/10.14692/jfi.15.6.239-247>.
- Audrain, B., Farag, M. A., Ryu, C. M., & Ghigo, J. M. (2015). Role of bacterial volatile compounds in bacterial biology. *FEMS Microbiology Reviews*, 39(2), 222–233. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuu013>.

- Bacon, C. W., & Hinton, D. M. (2002). Endophytic and biological control potential of *Bacillus mojavensis* and related species. *Biological Control*, 23, 274–284. <https://doi.org/10.1006/bcon.2001.1016>.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. (2013). *Deskripsi Varietas Unggul Jagung Edisi 2013*. Pusat penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Kementerian Pertanian.
- Beck, H. C., Hansen, A. M., & Lauritsen, F. R. (2003). Novel pyrazine metabolites found in polymyxin biosynthesis by *Paenibacillus polymyxa*. *FEMS Microbiology Letters*. [https://doi.org/10.1016/S0378-1097\(03\)00054-5](https://doi.org/10.1016/S0378-1097(03)00054-5).
- Beye, M., Fahsi, N., Raoult, D., & Fournier, P. (2018). Careful use of 16S rRNA gene sequence similarity values for the identification of *Mycobacterium species*. *New Microbes and New Infections*, 22, 24–29. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2017.12.009>.
- Bharose, A. A., Gajera, H. P., Hirpara, D. G., Golakiya, B. A., & Kachhadia, V. H. (2017). Molecular identification and characterization of *Bacillus* antagonist to inhibit aflatoxigenic *Aspergillus flavus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(3), 2466–2484. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.603.280>.
- Botelho, G. R., & Mendonça-Hagler, L. C. (2006). Fluorescent *Pseudomonads* associated with the rhizosphere of crops - An overview. *Brazilian Journal of Microbiology*, 37(4), 401–416. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822006000400001>.
- Bottini, R., Cassán, F., & Piccoli, P. (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 65(5), 497–503. <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1696-1>.
- Brahmbhatt, D. (2014). Molecular identification of bacteria using 16s rDNA sequencing. A Dissertation Submitted to the In Partial Fulfilment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Microbiology by : (April 2012). <https://doi.org/10.13140/2.1.4412.6406>.
- Buana, R. F., Wicaksono, W. A., & Situmorang, E. C. (2011). *In vitro* test of rhizosphere chitinolytic bacteria as a biocontrol for *Ganoderma boninense*. In *Proceedings of The 7th ACSA Conference 2011* (pp. 372–376).
- Budi, I. S. (2013). Biocontrol for rhizoctonia stem rot disease by using combination of specific endophyte in paddy tidal swamp. *Agrivita*, 35(3), 304–310.
- Burbank, L., Mohammadi, M., & Roper, M. C. (2015). Siderophore-mediated iron acquisition influences motility and is required for full virulence of the xylem-dwelling bacterial phytopathogen *Pantoea stewartii* subsp *stewartii*. *Applied and Environmental Microbiology*, 81(1): 139–148. <https://doi.org/10.1128/AEM.02503-14>
- Campanini, E. B., Davolos, C. C., Alves, E. C. C., & Lemos, M. V. F. (2012). Isolation of *Bacillus thuringiensis* strains that contain Dipteran-specific cry genes from Ilha Bela (Sao Paulo, Brazil) soil samples. *Braz. J. Biol.*, 72(2), 243–247.

- Caulier, S., Gillis, A., Colau, G., Licciardi, F., Liépin, M., Desoignies, N., Modrie, P., Legreve, A., Mahlion, J. & Bragard, C. (2018). Versatile antagonistic activities of soil-borne *Bacillus* spp. and *Pseudomonas* spp. against *Phytophthora infestans* and other potato pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9(FEB), 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00143>
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodríguez, M. I., Chulze, S., & Etcheverry, M. (2005). Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides* in vitro and at the maize root level. *Research in Microbiology*, 156(5–6), 748–754. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2005.03.001>
- Cavaglieri, L., Orlando, J., & Etcheverry, M. (2009). Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. *Microbiological Research*, 164(4), 391–399. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2007.03.006>
- Cawoy, H., Bettiol, W., Fickers, P., & Ongena, M. (2011). *Bacillus*-Based Biological Control of Plant Diseases. In M. Stoytcheva (Ed.), *Pesticides in the Modern World-Pesticides Use and Management* (pp. 273–302). <https://doi.org/10.5772/52807>
- Chaudhary, S., Sagar, S., Tomar, A., Sengar, R. S., & Kumar, M. (2016). Banded leaf and sheath blight: A menacing disease of maize (*Zea mays* L.) and its management. *Journal of Applied and Natural Science*, 8(3), 1720–1730. <https://doi.org/10.31018/jans.v8i3.1030>
- Chen, Y., Yan, F., Chai, Y., Liu, H., Kolter, R., Losick, R., & Guo, J. H. (2013). Biocontrol of tomato wilt disease by *Bacillus subtilis* isolates from natural environments depends on conserved genes mediating biofilm formation. *Environmental Microbiology*, 15(3), 848–864. <https://doi.org/10.1111/j.1462-2920.2012.02860.x>
- Cherif-Silini, H., Silini, A., Yahiaoui, B., Ouzari, I., & Boudabous, A. (2016). Phylogenetic and plant-growth-promoting characteristics of *Bacillus* isolated from the wheat rhizosphere. *Annals of Microbiology*, 66(3), 1087–1097. <https://doi.org/10.1007/s13213-016-1194-6>
- Compant, Duffy, S. B., EA., B., Clement, C., & Nowak, J. (2005). Use of plant growth-promotng bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisme of acion, and future prospects. *Applied and Enviromental Microbiology*, 71(9), 4951-4959.
- Cordero, P., Cavigliasso, A., Príncipe, A., Godino, A., Jofré, E., Mori, G., & Fischer, S. (2012). Genetic diversity and antifungal activity of native *Pseudomonas* isolated from maize plants grown in a central region of Argentina. *Systematic and Applied Microbiology*, 35(5), 342–351.
- Cortes-Barco, A. M., Goodwin, P. H., & Hsiang, T. (2010). Comparison of induced resistance activated by benzothiadiazole 2R 3R -butanediol.pdf. *Plant Pathology*, 59, 643–653. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2010.02283.x>
- Da Silva, M. P., Tylka, G. L., & Munkvold, G. P. (2017). Seed treatment effects on maize seedlings coinfectd with *Rhizoctonia solani* and *Pratylenchus penetrans*. *Plant Disease*, 101(6), 957–963. <https://doi.org/10.1094/PDIS-10-16-1417-RE>

- Del Angel, E. C., Castillo, F. D. H., Fuentes, Y. M. O., Morales, G. G., Reyes, F. C., & Cauich, F. M. T. (2017). Endophytic bacteria controlling *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* in *Solanum tuberosum*. *European Journal of Physical and Agricultural Sciences*, 5(1), 29–39.
- Departemen Pertanian. (2008). *Pedoman Diagnosis OPTK Golongan Bakteri*. Departemen Pertanian, Jakarta.
- Dewi, N. (2015). *Uji Antagonis Bakteri Rizosfer Pisang Terhadap Cendawan Patogen Rhizoctonia solani*. Skripsi.. Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Alauddin, Makassar
- Dhayanithi, V., Syed, S. S., Kumaran, K., Sankar, K. R. J., Ragavan, R. V., Goud, P. S. K., Kumari, N.S., & Pati, H. N. (2011). Synthesis of selected 5-thio-substituted tetrazole derivatives and evaluation of their antibacterial and antifungal activities. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 76(2), 165–175. <https://doi.org/10.2298/JSC090421001D>
- Direktorat Perlindungan Perkebunan. (2014). *Pedoman Uji Mutu Dan Uji Efikasi Lapangan Agens Pengendali Hayati (APH)*. Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Djaenuddin, N., Nonci, N., & Muis, A. (2017). Efektivitas Formula *Bacillus subtilis* TM4 untuk Pengendalian Penyakit pada Tanaman Jagung. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 13(4), 113–118. <https://doi.org/10.14692/jfi.13.4.113>
- Djaenuddin, N., Nonci, N., & Muis, A. (2017). The effectiveness of biopesticide formulation *Bacillus subtilis* BNt8 as biocontrol agent of banded leaf and sheath blight (*Rhizoctonia solani*) disease on corn (*Zea mays* L.). *AAB Bioflux*, 9(1), 1–11. Retrieved from <http://www.aab.bioflux.com.ro>
- Djemelyana, L. E. (2018). Potensi bakteri rizosfer Lamtoro di UB Forest sebagai pengendali penyakit rebah kecambah *Rhizoctonia solani* pada tanaman kedelai. Skripsi. Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.
- Djuric, S., Pavic, A., Jarak, M., Pavlovic, S., Starovic, M., Pivic, R., & Josic, D. (2011). Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in Vojvodina as possible PGPR. *Romanian Biotechnological Letters*, 16(5), 6580–6590.
- Dong, C. J., Wang, L. L., Li, Q., & Shang, Q. M. (2019). Bacterial communities in the rhizosphere, phyllosphere and endosphere of tomato plants. *PLoS ONE*. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0223847>
- Donnarumma, G., Buommino, E., Fusco, A., Paoletti, I., Auricchio, L., & Tufano, M. A. (2010). Effect of temperature on the shift of *Pseudomonas fluorescens* from an environmental microorganism to a potential human pathogen. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 23(1), 227–234.
- Dua, S., & Sindhu, S. S. (2012). Effectiveness of rhizosphere bacteria for control of root rot disease and improving plant growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of Microbiology Research*, 2(2), 26–35. <https://doi.org/10.5923/j.microbiology.20120202.05>
- Dutta, D., Puzari, K. C., Gogoi, R., & Dutta, P. (2014). Endophytes: exploitation as a

- tool in plant protection. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 57(5), 621–629. <https://doi.org/10.1590/S1516-8913201402043>
- Es-soufi, R., Bouzdoudi, B. El, Bouras, M., Kbiach, M. L. E., Badoc, A., & Lamarti, A. (2017). Assessment of the effect of environmental factors on the antagonism of *Bacillus amyloliquefaciens* and *Trichoderma harzianum* to *Colletotrichum acutatum*. *Advances in Microbiology*, 7, 729–742. <https://doi.org/10.4236/aim.2017.711058>
- Fan, B., Blom, J., Klenk, H. P., & Borriss, R. (2017). *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus velezensis*, and *Bacillus siamensis* form an “Operational Group *B. amyloliquefaciens*” within the *B. subtilis* species complex. *Frontiers in Microbiology*, 8, 1–15. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00022>
- Farag, M. A., Ryu, C. M., Sumner, L. W., & Paré, P. W. (2006). GC-MS SPME profiling of rhizobacterial volatiles reveals prospective inducers of growth promotion and induced systemic resistance in plants. *Phytochemistry*, 67(20), 2262–2268. <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.07.021>
- Farooq, U. & Bano, A. (2013). Screening of indigenous bacteria from rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) for their plant growth promotion ability and antagonism against fungal and bacterial pathogens. *Journal of Animal and Plant Sciences*, 23(6), 1642–1652.
- Fickers, P. (2012). Antibiotic Compounds from *Bacillus*: Why are they so Amazing? *American Journal of Biochemistry and Biotechnology*, 8(1), 38–43. <https://doi.org/10.3844/ajbbbsp.2012.40.46>
- Figuerola-López, A. M., Cordero-Ramírez, J. D., Martínez-Álvarez, J. C., López-Meyer, M., Lizárraga-Sánchez, G. J., Félix-Gastélum, R., Castro-Martínez, C. & Maldonado-Mendoza, I. E. (2016). Rhizospheric bacteria of maize with potential for biocontrol of *Fusarium verticillioides*. *SpringerPlus*, 5(1), 330. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-1780-x>
- Flury, P., Vesga, P., Péchy-Tarr, M., Aellen, N., Dennert, F., Hofer, N., Kupferschmied, K. P., Kupferschmied, P., Metla, Z., Ma, Z., Siegfried, S., de Weert, S., Bloemberg, G., Höfte, M., Keel, C.J., & Maurhofer, M. (2017). Antimicrobial and insecticidal: Cyclic lipopeptides and hydrogen cyanide produced by plant-beneficial *Pseudomonas* strains CHA0, CMR12a, and PCL1391 contribute to insect killing. *Frontiers in Microbiology*, 8(FEB). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00100>
- Fu, S., Wei, J., Chen, H., Liu, Y., Lu, H., & Chou, Y. (2015). Indole-3-acetic acid_ A widespread physiological code in interactions of fungi with other organisms. *Plant Signaling & Behavior*, 10(8), e1048052. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1080/15592324.2015.1048052>
- Ganeshan, G., & Kumar, A.M. (2005). *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. *Journal of Plant Interactions*, 1(3), 123–134. <https://doi.org/10.1080/17429140600907043>
- Gao, H., Li, P., Xu, X., Zeng, Q., & Guan, W. (2018). Research on volatile organic compounds from *Bacillus subtilis* CF-3: Biocontrol effects on fruit fungal pathogens and dynamic changes during fermentation. *Frontiers in Microbiology*, 9(MAR). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00456>

- Geetha, K., Venkatesham, E., Hindumathi, A., & Bhadraiah, B. (2014). Original Research Article Isolation , screening and characterization of plant growth promoting bacteria and their effect on *Vigna Radita* (L .) R . Wilczek. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(6), 799–809.
- Gheler Costa, F., Zucchi, T. D., & Soares De Melo, I. (2013). Biological control of phytopathogenic fungi by endophytic actinomycetes isolated from maize (*Zea mays* L.). *Arch. Biol. Technol.* V, 56656(6), 948–955. Retrieved from <http://www.scielo.br/pdf/babt/v56n6/a09v56n6.pdf>
- Ghosh, S. K., Pal, S., & Chakraborty, N. (2015). The qualitative and quantitative assay of siderophore production by some microorganisms and effect of different media on its production. *International Journal of Chemical Sciences*, 13(4), 1621–1629.
- Gomila, M., A. Peña, M. Mulet, J. Lalucat & E. García-Valdés. (2015) Phylogenomics and systematics in *Pseudomonas*. *Front. Microbiol.* 6:214. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00214>
- Gond, S. K., Bergen, M. S., Torres, M. S., & White, J. F. (2015). Endophytic *Bacillus* spp. produce antifungal lipopeptides and induce host defence gene expression in maize. *Microbiological Research*, 172, 79–87.
- Gow, N. A. R., Latge, J., & Munro, C. A. (2017). The Fungal Cell Wall : Structure , Biosynthesis, and Function. *Microbiol Spectrum* 5(3):1-25. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.FUNK-0035-2016>
- Guo, Q., Dong, W., Li, S., Lu, X., Wang, P., Zhang, X., wang, Y. & Ma, P. (2014). Fengycin produced by *Bacillus subtilis* NCD-2 plays a major role in biocontrol of cotton seedling damping-off disease. *Microbiological Research*, 169(7–8), 533–540. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.12.001>
- Gupta, D., & Sinha, S. N. (2020). Production of hydrogen cyanide (HCN) by purple non sulfur bacterium isolated from the rice field of West Bengal. *IOSR Journal Of Pharmacy And Biological Sciences*, 15(1), 16–26. <https://doi.org/10.9790/3008-1501031626>
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): Current and future prospects for development of sustainable agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 96–102. <https://doi.org/10.4172/1948-5948.1000188>
- Hallmann, J., Quadt-Hallmann, A., Mahaffee, W. F., & Kloepper, J. W. (1997). Bacterial endophytes in agricultural crops. *Canadian Journal of Microbiology*, 43(10), 895–914. <https://doi.org/10.1139/m97-131>
- Hassan, S. E. (2017). Plant growth-promoting activities for bacterial and fungal endophytes isolated from medicinal plant of *Teucrium polium* L . *Journal of Advanced Research*, 8(6), 687–695. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2017.09.001>
- Hastuti, R., Saraswati, R., & Sari, A. (2014). The effectiveness of the endophytic microbes in promoting plant growth and controlling leaf blight disease in the lowland rice. *Jurnal Tanah Dan Iklim*, 38(2), 109–118.
- Heydari, A., & Pessarakli, M. (2010). A review on biological control of fungal plant

- pathogens using microbial antagonists. *Journal of Biological Sciences*, 10(4), 273–290. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.273.290>
- Hidayat, T. & A. Pancoro. (2008). Kajian filogenetika molekuler dan peranannya dalam menyediakan informasi dasar untuk meningkatkan kualitas sumber genetik anggrek. *Jurnal AgroBiogen* 4(1):35-40
- Hidayah, N., & Yulianti, T. (2016). Uji Antagonisme *Bacillus cereus* terhadap *Rhizoctonia solani* dan *Sclerotium rolfsii*. *Buletin Tanaman Tembakau, Serat & Minyak Industri*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.21082/bultas.v7n1.2015.1-8>
- Holden, V. I., & Bachman, M. A. (2015). Diverging roles of bacterial siderophores during infection. *Metallomics*. <https://doi.org/10.1039/c4mt00333k>
- Hsu, S. C., & Lockwood, J. L. (1975). Powdered Chitin Agar as a Selective Medium for Enumeration of Actinomycetes in Water and Soil. *Applied Microbiology*, 29(3), 422–426. <https://doi.org/10.1128/am.29.3.422-426.1975>
- Idris, E. E., Iglesias, D. J., Talon, M., & Borriss, R. (2007). Tryptophan-dependent production of indole-3-acetic acid (IAA) affects level of plant growth promotion by *Bacillus amyloliquefaciens* FZB42. *MPMI*, 6, 619–626.
- Islam, S., Akanda, A. M., Prova, A., Islam, M. T., & Hossain, M. M. (2016). Isolation and identification of plant growth promoting rhizobacteria from cucumber rhizosphere and their effect on plant growth promotion and disease suppression. *Frontiers in Microbiology*, 6, 1360. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01360>
- Izhar, T., & Chakraborty, M. (2013). Genetic Analysis of Banded Leaf and Sheath Blight Resistance (*Rhizoctonia solani*) in Maize. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 1(6), 1–5.
- Jaddoa, H. H., Hameed, I. H., & Mohammed, G. J. (2016). Analysis of volatile metabolites released by *Staphylococcus aureus* using gas chromatography-mass spectrometry and determination of its antifungal activity. *Oriental Journal of Chemistry*, 32(4), 2107–2116. <https://doi.org/10.13005/ojc/320439>
- Jain, A., & Das, S. (2016). Insight into the interaction between plants and associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *International Journal of Agronomy*, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/4269010>
- Jeger, M. J., & Viljanen-Rollinson, S. L. H. (2001). The use of the area under the disease-progress curve (AUDPC) to assess quantitative disease resistance in crop cultivars. *Theoretical and Applied Genetics*, 102(1), 32–40. <https://doi.org/10.1007/s001220051615>
- Junaid, J. M., Dar, N. A., Bhat, T. A., Bhat, A. H., & Bhat, M. A. (2013). Commercial biocontrol agents and their mechanism of action in the management of plant pathogens. *Int. J. Modern Plant & Anim. Sci*, 1(12), 39–57.
- Kai, M., Haustein, M., & Molina, F. (2009). Bacterial volatiles and their action potential. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 81, 1001–1012. <https://doi.org/10.1007/s00253-008-1760-3>

- Kai, M., & Piechulla, B. (2010). Impact of volatiles of the rhizobacteria, 5(444), 444–446. <https://doi.org/10.1007/s00425-009-1076-2>.only
- Kandel, S. L., Joubert, P. M., & Doty, S. L. (2017). Bacterial endophyte colonization and distribution within plants. *Microorganism*, 5(77), 1–26. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5040077>
- Karmel Reetha, A., Pavani, S. L., & Mohan, S. (2014). Hydrogen cyanide production ability by bacterial antagonist and their antibiotics inhibition potential on *Macrophomina phaseolina* (Tassi.) Goid. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(5), 172–178.
- Kementerian Pertanian. (2020). Outlook Jagung, Komoditas Pertanian Subsektor Tanaman Pangan Tahun 2020. Kementerian Pertanian, Jakarta.
- Khaeruni, A., Asniah, A., Taufik, M., & Sutariati, G. (2014). aplikasi formula campuran rizobakteri untuk pengendalian penyakit busuk akar *Rhizoctonia* dan peningkatan hasil kedelai di tanah ultisol. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 10(2), 37–44. <https://doi.org/10.14692/jfi.10.2.37>
- Khan, A. L., Shahzad, R., Al-Harrasi, A., & Lee, I.-J. (2017). Endophytic Microbes: A Resource for Producing Extracellular Enzymes. In D. K. Maheshwari & K. Annapurna (Eds.), *Endophytes: Crop Productivity and Protection, Sustainable Development and Biodiversity* (pp. 95–110). Springer International Publishing AG. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66544-3_
- Khan, M. A., Gangopadhyay, S., Jatav, H. S., Meena, R. K., Attar, S. K., Kumaawat, S., Khan, M., Khatik, C.L., Verma, K.C, Mahala, S.C. & Nitharwal, M. (2022). Fluorescent *Pseudomonas*: diversity, abundance and potential biotechnological applications in agriculture. In H. S. Jatav (Ed.). *Ecosystem Services*. Nova Science Publisher, Inc.
- Kim, W. G., Cho, W. D., & Lee, Y. H. (1993). Anastomosis groups and pathogenicity of isolates of *Rhizoctonia solani* and *R. zeae* from corn. In *Role of fungi as Frontiers of Biosciences: Proceedings of the Asian Mycological Symposium in commemoration of the 20th anniversary of Korean Society of Mycology, October 1-4 1992, Seoul, Korea*. (pp. 147–159). Department of Plant Pathology, Agricultural Sciences Institute, Suwon 441-707, Korea Republic.
- Korsten, L., & Cook, N. (1996). Optimizing culturing conditions for *Bacillus subtilis*. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 19, 54–58.
- Kumar, P., Dubey, R. C., Maheshwari, D. K., Park, Y. H., & Bajpai, V. K. (2016). Isolation of plant growth-promoting *Pseudomonas* sp. PPR 8 from the rhizosphere of *Phaseolus vulgaris* L. *Archives of Biological Sciences*, 68(2), 363–374. <https://doi.org/10.2298/ABS150701028K>
- Kumar, V., Kumar, A., Deo Pandey, K., & Krishna Roy, B. (2015). Isolation and characterization of bacterial endophytes from the roots of *Cassia tora* L. *Ann Microbiol*, 65, 1391–1399. <https://doi.org/10.1007/s13213-014-0977-x>
- Kusmiyati, N. (2015). Aktivitas Penghambatan Isolat Bakteri dan Rizosfer dari Empat Jenis Bambu Toraja Terhadap Jamur Penyebab Busuk Tanaman. *Skripsi*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, UNS, Surakarta

- Leiwakabessy, C., & Latupeirissa, Y. (2013). Eksplorasi bakteri endofit sebagai agens hayati pada tanaman kersen (*Muntingia calabura* L.). *Jurnal Budidaya Pertanian*, 9(1), 16–21.
- Lim, S. M., Yoon, M.-Y., Choi, G. J., Choi, Y. H., Jang, K. S., Shin, T. S., Park, H.W., Yu, N.H., Kim, Y.H. & Kim, J.-C. (2017). Diffusible and volatile antifungal compounds produced by an antagonistic *Bacillus velezensis* G341 against various phytopathogenic fungi. *The Plant Pathology Journal*, 33(5), 488–498. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.04.2017.0073>
- Litbang Pertanian. (2017). Kebijakan Pelaksanaan Program Peningkatan Produksi Pangan Pokok. <https://Pse.Litbang.Pertanian.Go.Id/Ind/Pdffiles/2017-Anjak-Upsus.Pdf>.
- Liu, H., Carvalhais, L. C., Crawford, M., Singh, E., Dennis, P. G., Pieterse, C. M. J., & Schenk, P. M. (2017). Inner plant values : diversity , colonization and benefits from endophytic bacteria. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2552. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.02552>
- Liu, Y., Shi, Z., Yao, L., Yue, H., Li, H., & Li., C. (2013). Effect of IAA produced by *Klebsiella oxytoca* Rs-5 on cotton growth under salt stress. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 59, 59–65
- Logan, N. A., & De Vos, P. (2009). Genus I. *Bacillus* Cohn 1872. In P. De Vos, G. Garrity, Jones, N. R. Krieg, W. Ludwig, F. A. Rainey, Schleifer, K.H. & W. B. Whitman (Eds.), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, 2nd ed., vol. 3 (*The Firmicutes*) (pp. 19–128). Springer-Verlag, New York. pp. 19-128.
- Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*, 12(1), 51–53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
- Lu, Z., Guo, W., & Liu, C. (2018). Isolation, identification and characterization of novel *Bacillus subtilis*. *J. Vet. Med. Sci.*, 80(3), 427–433. <https://doi.org/10.1292/jvms.16-0572>
- Madhavi, G. B., Bhattiprolu, S. L., Bharathi, S., Reddy, V. C., & Ankaiah, R. (2011). Studies on the management of banded leaf and sheath blight disease of maize (*Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii*) using fluorescent Pseudomonads. In M. S. Reddy & Q. Wang (Eds.), *Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (Pgpr) For Sustainable Agriculture* (pp. 567–576). China: Proc. 2nd Asian PGPR Conference, Beijing P.R. China, pp 567-576.
- Madhavi, G. B., Grace, G. A. D., & Suresh, M. (2021). Evaluation of fungicides against *Rhizoctonia solani* f.sp *sasakii* inciting banded leaf and sheath blight disease of maize *in vitro*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 10(38), 247–251. <https://doi.org/10.37273/chesci.cs205110021v>
- Madhavi, M., Reddy, P. N., Reddy, R. R., & Reddy, S. S. (2015). Morphological and molecular variability of *Rhizoctonia solani* isolates causing banded leaf and sheath blight in maize. *International Journal of Bio-Resource and Stress Management*, 6(3), 375. <https://doi.org/10.5958/0976-4038.2015.00060.3>
- Maleki, M., Mostafaei, S., Mokhtarnejad, L., & Farzaneh, M. (2010). Characterization of *Pseudomonas fluorescens* strain CV6 isolated from

cucumber rhizosphere in Varamin as a potential biocontrol agent. *Australian Journal of Crop Science*, 4(9), 676–683.

- Manasikana, A., Suryanti, Sulandari, S., & Priyatmojo, A. (2021). Keragaman *Rhizoctonia solani* isolat padi varietas Ciherang, IR 64, Mekongga, dan Situ Bagendit. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 17(4), 141–150.
<https://doi.org/10.14692/jfi.17.4.141-150>
- Martinius, Liswarni, Y., & Miska, Y. (2010). Uji konsentrasi air rebusan daun serai wangi *Andropogon nardus* L. (Graminae) terhadap pertumbuhan jamur *Colletotrichum gloeosporioides* Penz., penyebab penyakit antraknosa pada pepaya secara in vitro. *Manggara*, 11(2), 57–64.
- Marzouk, T., Chouachi, M., Sharma, A., Jallouli, S., Mhamdi, R., Kaushik, N., & Djebali, N. (2021). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* using volatile organic compounds of solanaceae seed-borne endophytic bacteria. *Postharvest Biology and Technology*, 181(111665), 1–4.
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2021.111655>
- Mengistu, A. A. (2020). Endophytes : colonization, behaviour, and their role in defense mechanism. *International Journal of Microbiology*, 1–8.
- Meyer, M. C., Bueno, C. J., de Souza, N. L., & Yorinori, J. T. (2006). Effect of doses of fungicides and plant resistance activators on the control of *Rhizoctonia* foliar blight of soybean, and on *Rhizoctonia solani* AG1-IA in vitro development. *Crop Protection*, 25(8), 848–854. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.11.008>
- Mikhail, S. M., Sabet, K. K., Omar, M. R., Asran, A. A., & Kasem, K. K. (2010). Current *Rhizoctonia solani* anastomosis groups in Egypt and their pathogenic relation to cotton seedlings. *African Journal of Microbiology Research*, 4(5), 386–395.
- Mishra, P., Mishra, J., Dwivedi, S. K., & Arora, N. (2020). Microbial enzymes in biocontrol of phytopathogens. In P. Misra, S. K. Dwivedi, & N. K. Arora (Eds.), *Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries, Microorganisms for Sustainability 11* (pp. 259–285). Springer Nature Singapore Pte Ltd.
<https://doi.org/10.1007/978-981-15-1710-5>
- Mohammad, B. T., Al Daghistani, H. I., Jaouani, A., Abdel-Latif, S., & Kennes, C. (2017). Isolation and characterization of thermophilic bacteria from jordanian hot springs: *Bacillus licheniformis* and *Thermomonas hydrothermalis* Isolates as potential producers of thermostable enzymes. *International Journal of Microbiology*, 1–12. <https://doi.org/10.1155/2017/6943952>
- Mohandass, C. (1985). 17 . Bacterial siderophores and their biotechnological applications research on siderophores. *Indian Journal of Experimental Biology*, (1981), 169–174.
- Montanez, A., Blanco, A. R., Barlocco, C., Beracochea, M., & Sicardi, M. (2012). Characterization of cultivable putative endophytic plant growth promoting bacteria associated with maize cultivars (*Zea mays* L.) and their inoculation effects in vitro. *Appl. Soil Ecol.* 58, 21–28.
- Muis, A, Djaenuddin, N., & Nonci, N. (2015). Uji virulensi beberapa isolat bakteri antagonis putative *Bacillus subtilis* sebagai agens pengendali hayati penyakit tanaman jagung. *Bul Pen Tan Serealia*, 1(1), 8–15.

- Muis, A., Djaenuddin, N., & Nonci, N. (2016). Evaluasi lima jenis inner carrier dan formulasi *Bacillus subtilis* untuk pengendalian hawar pelepah jagung (*Rhizoctonia Solani* Kuhn). *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan Tropika*, 15(2), 164. <https://doi.org/10.23960/j.hptt.215164-169>
- Muis, A., & Quimio. (2006). Effectiveness of *Bacillus subtilis* (Ehrenberg) Cohn against *Rhizoctonia solani* Kuhn in vitro. *Journal Agroland*, 13(September), 234–239.
- Mulyani, S., Inderiati, S., & Wisdawati, E. (2015). Study on application of endohyptic actinomycetes and mycorrhizae to induce resistance toward *Rhizoctonia solani* and growth promotion activity. *Jurnal Agrotan*, 1(1), 15–24. Retrieved from <http://www.agrotan.ojsstiperyapim.com/index.php/ja/article/view/4/4>
- Mulyati, S. (2009). Pengendalian penyakit hawar pelepah daun (*Rhizoctonia solani*) menggunakan beberapa agensia hayati golongan cendawan pada tanaman jagung (*Zea mays*). *J. Agronomi*, 13(2), 37-43,.
- Munif, A., Wiyono, S., & Suwarno, S. (2012). Isolasi bakteri endofit asal padi gogo dan potensinya sebagai agens biokontrol dan pemacu pertumbuhan. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, 8(3), 57–64. <https://doi.org/10.14692/jfi.8.3.57>
- Nair, D. N., & Padmavathy, S. (2014). Impact of endophytic microorganisms on plants, environment and humans. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/250693>
- Nandi, M., Selin, C., Brassinga, A. K. C., Belmonte, M. F., Fernando, W. G. D., Loewen, P. C., & De Kievit, T. R. (2015). Pyrrolnitrin and hydrogen cyanide production by *Pseudomonas chlororaphis* strain PA23 exhibits nematocidal and repellent activity against *Caenorhabditis elegans*. *PLoS ONE*, 10(4), 1–19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123184>
- Naveed, M., Mubeen, S., Khan, S. U., Ahmed, I., Khalid, N., Suleria, H. A. R., Bano, A. & Mumtaz, A. S. (2014). Identification and characterization of rhizospheric microbial diversity by 16S ribosomal RNA gene sequencing. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(3), 985–993. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822014000300031>
- Nega, A. (2014). Review on concepts in biological control of plant pathogens. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 4(27), 33–55.
- Nivetha, L., Hema, S., Jayachandran, H., & Priyadharshini, M. (2018). Microbial siderophore and its importance in agriculture. *International Journal of Research in Engineering, Science and Management* 1(12): 214-215.
- Nuryanto, B., Priyatmojo, A., & Hadisutrisno, B. (2014). Pengaruh tinggi tempat dan tipe tanaman padi terhadap keparahan penyakit hawar pelepah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan*, 33(1), 1–8.
- Ohike, T., Makuni, K., Okanami, M., & Ano, T. (2013). Screening of endophytic bacteria against fungal plant pathogens. *Journal of Environmental Sciences (China)*, 25(S1), S122–S126. [https://doi.org/10.1016/S1001-0742\(14\)60640-9](https://doi.org/10.1016/S1001-0742(14)60640-9)
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. (2017). Mechanisms of action of

- plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33(11), 1–16. <https://doi.org/10.1007/s11274-017-2364-9>
- Orole, O. O., & Adejumo, T. O. (2011). Bacterial and fungal endophytes associated with grains and roots of maize. *Journal of Ecology and the Natural Environment*, 3(9), 298–303. Retrieved from <http://www.academicjournals.org/jene>
- Oztekin, S., & Karbancioglu-Guler, F. (2021). Bioprospection of *Metschnikowia* sp. isolates as biocontrol agents against postharvest fungal decays on lemons with their potential modes of action. *Postharvest Biology and Technology*, 181, 111634. <https://doi.org/DOI: 10.1016/j.postharvbio2021.111634>.
- Pal, K. K., & Mc Spadden Gardener, B. (2006). Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*, 1–25. <https://doi.org/10.1094/PHI-A-2006-1117-02.Biological>
- Passari, A. K., Mishra, V. K., Leo, V. V., Gupta, V. K., & Singh, B. P. (2016). Phytohormone production endowed with antagonistic potential and plant growth promoting abilities of culturable endophytic bacteria isolated from *Clerodendrum colebrookianum* Walp. *Microbiological Research*, 193, 57–73. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.09.006>
- Prashar, P., Kapoor, N., & Sachdeva, S. (2013). Rhizosphere: its structure, bacterial diversity and significance. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.*, 12, 1–14. <https://doi.org/10.1007/s11157-013-9317-z>
- Prasher, I. B., & Dhanda, R. K. (2017). GC-MS Analysis of secondary metabolites of endophytic *Nigrospora sphaerica* isolated from *Parthenium hysterophorus*. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 44(1), 217–223.
- Purwantara, S. (2015). Studi temperatur udara terkini di wilayah Jawa Tengah dan DIY. *Geomedia*, 13, 41–52.
- Raaijmakers, J. M., & Weller, D. M. (1998). Natural plant protection by 2,4-diacetylphloroglucinol-producing *Pseudomonas* spp. in Take-all decline soils. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 11(2), 144–152. <https://doi.org/10.1094/MPMI.1998.11.2.144>
- Radhakrishnan, R., & Lee, I. J. (2016). Gibberellins producing *Bacillus methylotrophicus* KE2 supports plant growth and enhances nutritional metabolites and food values of lettuce. *Plant Physiology and Biochemistry*, 109, 181–189. <https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2016.09.018>
- Rahmah, R. P. A., Meiskha, B., & Yanti, H. (2017). Uji daya hambat filtrat zat metabolit *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Jurnal Biogenesis UIN Alaudin*, 5(1), 34–41.
- Rai, D., & Singh, S. K. (2018). Is Banded Leaf and Sheath Blight a Potential Threat to Maize Cultivation in Bihar? *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(11), 671–683. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.711.080>
- Raju, R., Kandhasamy, S., Narayanan Subramanian, L., & Nambi Marisamy, A.

- (2020). Comparative Management Studies on Banded Leaf and Sheath Blight of Maize Caused by *Rhizoctonia Solani* F.SP. *Sasakii*. *Applied Ecology and Environmental Sciences*, 9(1), 53–57. <https://doi.org/10.12691/aees-9-1-7>
- Rambe, N. (2018). Potensi bakteri endofit isolat rumput angin (*Spinifex littoreus* (Burn F.) Merr dalam menekan pertumbuhan *Rhizoctonia solani* pada tanaman jagung. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara, Medan
- Ramyasmruthi, S., Pallavi, O., Pallavi, S., Tilak, K., & Srividya, S. (2012). Chitinolytic and secondary metabolite producing *Pseudomonas fluorescens* isolated from Solanaceae rhizosphere effective against broad spectrum fungal phytopathogens. *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(1), 16–24.
- Rani, D. V, Reddy, N. P., & Devi, U. G. (2013). Management of maize banded leaf and sheath blight with fungicides and biocontrol agents. *Annals of Biological Research*, 4(7), 179–184.
- Rella, A., Faarnoud, A. M., & Poeta, M. D. (2016). Plasma membrane lipids and their role in fungal virulence. *Prog.Lipid Res.*, 61, 63–72.
- Rijavec, T., & Lapanje, A. (2016). Hydrogen cyanide in the rhizosphere: not suppressing plant pathogens, but rather regulating availability of phosphate. *Frontiers in Microbiology*, 7(NOV), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01785>
- Riyaz, M., Shah, R. A., & Sivasankaran, K. (2021). *Pesticide Residues: Impacts on Fauna and the Environment*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.98379>
- Roca-Couso, R., Flores-Félix, J. D., & Rivas, R. (2021). Mechanisms of action of microbial biocontrol agents against *Botrytis cinerea*. *Journal of Fungi*, 7(12), 1–26. <https://doi.org/10.3390/jof7121045>
- Rosenblueth, M., & Martínez-Romero, E. (2006). Bacterial endophytes and their interactions with hosts. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(8), 827–837. <https://doi.org/10.1094/MPMI-19-0827>
- Rossi-Tamisier, M., Benamar, S., Raoult, D., & Fournier, P. E. (2015). Cautionary tale of using 16s rRNA gene sequence similarity values in identification of human-associated bacterial species. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 65(6), 1929–1934. <https://doi.org/10.1099/ijs.0.000161>
- Ryan, R. P., Germaine, K., Franks, A., Ryan, D. J., & Dowling, D. N. (2007). Bacterial endophytes: Recent developments and applications. *FEMS Microbiology Letters*, 278(1), 1–9. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6968.2007.00918.x>
- Ryu, C., Farag, M. A., Hu, C., Reddy, M. S., Wei, H., Pare, P. W., & Kloepper, J. W. (2003). Bacterial volatiles promote growth in *Arabidopsis*. *PNAS*, 100(8), 4927–4932. <https://doi.org/10.1073/pnas.0730845100>
- Saeed, Q., Xiukang, W., Haider, F. U., Kučerik, J., Mumtaz, M. Z., Holatko, J., Naseem, M., Kintl, A., Ejaz, M., Naveed, M., Brtnicky, M. & Mustafa, A. (2021). Rhizosphere bacteria in plant growth promotion, biocontrol, and

bioremediation of contaminated sites: A comprehensive review of effects and mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(19).
<https://doi.org/10.3390/ijms221910529>

- Sagar, A., Dhushiya, K., Shukla, P. K., Singh, A., Lawrence, R., & Ramteke, P. W. (2018). Comparative analysis of production of hydrogen cyanide with production of siderophore and phosphate solubilization activity in plant growth promoting bacteria. *Vegetos*, 31(2), 130–135. <https://doi.org/10.5958/2229>
- Sagar, G., & Bhusal, K. (2019). Banded leaf and sheath bight (BLSB) of maize , its introduction, losses and management. *Journal of Soil Science and Plant Physiology*, 1(2).
- Sagar, G., Manandahar, H. K., Shrestha, S., & Bhusal, K. (2020). In-vitro and greenhouse management of banded leaf and sheath blight (BLSB) of maize, at Rampur, Chitwan, Nepal. *MOJ Ecology & Environmental Sciences*, 5(6), 238–242. <https://doi.org/10.15406/mojes.2020.05.00199>
- Salman, M., Abuamsha, R., & Barghouti, S. (2013). Interaction of fluorescent Pseudomonads with *Pythium ultimum* and *Rhizoctonia solani* in Cucumber Roots. *American Journal of Experimental Agriculture*, 3(1), 240–251.
<https://doi.org/10.9734/ajea/2013/2811>
- Sarbadhikary, S. B., & Mandal, N. C. (2017). Rhizosphere field application of two plant growth promoting rhizobacteria with potent antifungal properties. *Rhizosphere*, 3 (November 2016), 170–175.
<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2017.04.014>
- Schauer, N., Steinhauser, D., Strelkov, S., Schomburg, D., Allison, G., Moritz, T., ... Kopka, J. (2005). GC-MS libraries for the rapid identification of metabolites in complex biological samples. *FEBS Letters*, 579(6), 1332–1337.
<https://doi.org/10.1016/j.febslet.2005.01.029>
- Schulz, A. N., Lucardi, R. D., & Marsico, T. D. (2019). Successful invasions and failed biocontrol: the role of antagonistic species interactions. *BioScience*, 69(9), 711–724. <https://doi.org/10.1093/biosci/biz075>
- Selim, H. M. M., & Essa, A. M. (2017). Application of endophytic bacteria for the biocontrol of *Rhizoctonia solani* (Cantharellales : ceratobasidiaceae) damping-off disease in cotton seedlings. *Biocontrol Science and Technology*, 27(1), 81–95. <https://doi.org/10.1080/09583157.2016.1258452>
- Semangun, H. (1991). *Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta,.
- Setiawan, N. (2005). *Teknik Sampling*. Universitas Padjajaran, Bandung.
- Shanti, A. T., & Vittal, R. R. (2013). Biocontrol potenciales of plant growth promoting rhizobacteria against Fusarium wilt disease of cucurbit. *Esci J. Plant Pathol*, 2(3), 155–161.
- Sharma, A., Diwevidi, V. D., Singh, S., Pawar, K. K., Jerman, M., Singh, L. B., Singh, S. & Srivastawa, D. (2013). Biological control and its important in agriculture. *International Journal of Biotechnology and Bioengineering Research*, 4(3), 175–180. Retrieved from <http://www.ripublication.com/>

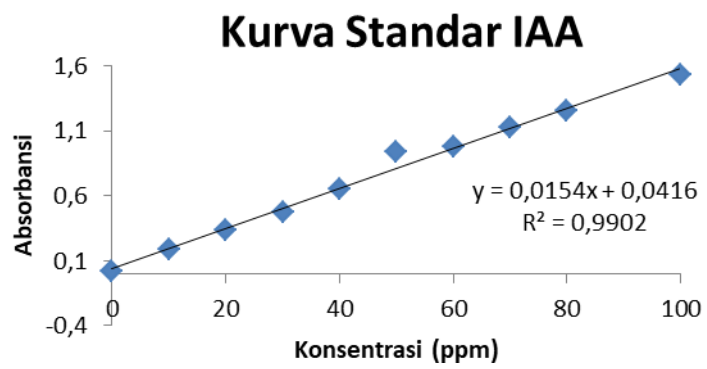
- Sharma, B. C., Singh, R. P., & Singh, R. (2020). Efficacy of bioagents and fungicides against banded leaf and sheath blight of maize caused by *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii* Kuhn. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 9(5), 2065–2071.
- Sharma, P., & Sharma, N. (2018). Molecular identification, production and optimization of pectinase by using *Stenotrophomonas maltophilia* P9 isolated from algal biomass of. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 7(1), 670–680.
- Sharma, R. C., Vasal, S. K., Gonzalez, F., Batsa, B. K., & Singh, N. N. (2002). Redressal of banded leaf and sheath blight of maize through breeding, chemical and biocontrol agents. In G. Srinivasan, P. H. Zaidi, B. M. Prasanna, F. Gonzalez, & K. Lesnick (Eds.), *Proceedings of the 8th Asian Regional Maize Workshop: New Technologies for the New Millennium*. (pp. 391–397). Bangkok, Thailand: August 5–8, 2002. Mexico, D.F.: CIMMYT.
- Shindu, S. S., RAKshiya, Y. S., & Sahu, G. (2009). Biological control of soilborne plant pathogens with rhizosphere bacteria. *Pest Technology*, 3(1), 10–21.
- Shrestha, B. K., Karki, H. S., Groth, D. E., Jungkhun, N., & Ham, J. H. (2016). Biological control activities of rice-associated *Bacillus* sp. strains against sheath blight and bacterial panicle blight of rice. *PLoS ONE*, 11(1), 1–18. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0146764>
- Shroff, S. (2016). Review on banded leaf and sheath blight of maize. *Management of Threatening Plant Diseases of National Importance*, 93, 39412–39415.
- Simko, I., & Piepho, H. P. (2012). The area under the disease progress stairs: Calculation, advantage, and application. *Phytopathology*, 102(4), 381–389. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-07-11-0216>
- Singh, A., & Shahi, J. P. (2012). Banded leaf and sheath blight : an emerging disease of maize (*Zea mays* L). *Maydica*, 57, 215–219.
- Singh, P. P., Shin, Y. C., Park, C. S., & Chung, Y. R. (1999). Biological control of *Fusarium* wilt of cucumber by chitinolytic bacteria. *Phytopathology*, 89(1), 92–99. <https://doi.org/10.1094/PHYTO.1999.89.1.92>
- Singh, S. K., Patel, M. B., Thakker, B. N., Hooda, K. S., & Barad, A. K. (2019). *Rhizoctonia solani* f.sp. *sasakii* inciting banded leaf and sheath blight of maize and their management: an overview. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(07), 2858–2866. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.807.356>
- Sivakumar, G., Sharma, R. C., & Rai, S. N. (2000). Biocontrol of banded leaf and sheath blight of maize by peat based *Pseudomonas fluorescens* formulation. *Indian Phytopath*, 53(2), 190–192.
- Slepecky, R. A., & Hemphill, H. E. (2006). Genus *Bacillus* - Nonmedical. *Prokaryotes*, 4, 530–562. Retrieved from <http://www.springerlink.com/index/10.1007/0-387-30744-3>
- Soenartinigsih. (2013). Potensi cendawan mikoriza arbuskular sebagai media pengendalian penyakit busuk pelepah pada jagung. *Iptek Tanaman Pangan*, 8(1), 48–53.

- Soenartiningih, Akil, M., & Andayani, N. N. (2015). Cendawan tular tanah (*Rhizoctonia solani*) penyebab penyakit busuk pelepah pada tanaman jagung dan sorgum dengan komponen pengendaliannya. *Iptek Tanaman Pangan*, 10(2), 85–92.
- Soenartiningih, Djaenuddin, N., & Saenong, M. S. (2014). Efektivitas *Trichoderma* spp. dan *Gliocladium* Spp. sebagai agens biokontrol hayati penyakit busuk pelepah daun pada jagung. *Jurnal Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 33(2):129-135., 33(2), 129–135.
- Soenartiningih, S. (2012). Potensi jamur mikoriza arbuskular dalam mengendalikan penyakit busuk pelepah pada tanaman jagung. *Biosfera*, 29(1), 30–35. Retrieved from <https://journal.bio.unsoed.ac.id/index.php/biosfera/article/view/232>
- Soenartiningih, Talanca, A., Juniarsih, & Yasin, H. G. (2008). Pengujian beberapa varietas/galur jagung terhadap penyakit busuk pelepah dan bulai. In *Prosiding Seminar Ilmiah dan Pertemuan tahunan XIX: PEI, PFI & HPTI. Makasar 5 November 2008*.
- Soesanto, L. (2000). *Ecological and Biological Control of Verticillium dahliae*. Wageningen University, Wageningen.
- Soesanto, L. (2008). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman, Suplemen ke Gulma dan Nematoda*. Rajawali Pers, Jakarta. 574 hal.
- Soesanto, L. (2009). *Pengendalian hayati patogen tanaman: peluang dan tantangan dalam menunjang ketahanan pangan berkelanjutan*. Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar Pada Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman.
- Soesanto, L., Mugiastuti, E., & Rahayuniati, R. (2010). Study of the antagonistic mechanism of *Pseudomonas fluorescens* P60 Against *Fusarium oxysporum* F.sp. *lycopersici* in tomatoes *in vivo*. *Jurnal HPT Tropika*, 10(2), 108–115.
- Solanki, M. K., Robert, A. S., Siingh, R. K., Kumar, S., Pandey, A. K., Srivastava, A. K., & Arora, D. K. (2012). Characterization of mycolytic enzymes of *Bacillus* strains and their bio-protection role against *Rhizoctonia solani* in tomato. *Current Microbiology*, 65, 330–336.
- Soylu, S., Soyulu, E. M., Kurt, S., & Ekici., O. K. (2005). Antagonistic potentials of rhizosphere-associated bacterial isolates against soilborne diseases of tomato and pepper caused by *Sclerotinia sclerotiorum* and *Rhizoctonia solani*. *Pak. J. Biol. Sci.* 8, 43–48.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007). Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiology Reviews*, 31(4), 425–448. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x>
- Sulistyaningtyas, A. R., & Supriyadi, A. (2017). Produksi miselium jamur Ling ZHI (*Ganoderma lucidum*) dalam medium air kelapa tua dan tauge extract broth dengan metode kultur terendam teragitasi. *Bioma*, 19(1), 58-61.
- Sumartini. (2011). Penyakit tular tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) pada tanaman kacang-kacangan dan umbi-umbian serta cara pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian.*, 31(1), 27–34.
- Sumartini. (2012). Penyakit tular tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*)

- pada tanaman kacang- kacangan dan umbi-umbian serta cara pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 31(1), 27–34.
- Surya, M., Thiruvudainambi, S., Ebenezar, E. G., Vanniarajan, C., & Kumutha, K. (2020). GC-MS Analysis of antimicrobial compounds produced by *Bacillus* spp . against rice sheath rot pathogen *Sarocladium oryzae*, 8(1), 1417–1423.
- Tamura, K., Stecher, G., & Kumar, S. (2021). MEGA 11: Analisis Genetika Evolusi Molekuler Versi 11. Biologi dan Evolusi Molekuler <https://doi.org/10.1093/molbev/msab120>.
- Tariq, A. L., Sudha, S., & Reyaz, A. L. (2016). Isolation and screening of *Bacillus* species from sediments and application in bioremediation. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(6), 916–924. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.506.099>
- Tokpah, D. P., Li, H., Wang, L., Liu, X., Mulbah, Q. S., & Liu, H. (2016). An assessment system for screening effective bacteria as biological control agents against *Magnaporthe grisea* on rice. *Biological Control*, 103, 21–29. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.07.009>
- Tsegaye, Z., Assefa, F., Genene, T., Tenkegna, T., Gizaw, B., & Abatenh, E. (2018). Concept, Principle and Application of Biological Control and their Role in Sustainable Plant Diseases Management Strategies. *International Journal of Research Studies in Biosciences*, 6(4). <https://doi.org/10.20431/2349-0365.0604004>
- Tsukanova, K. A., Chebotar, V., Meyer, J. J. M., & Bibikova, T. N. (2017). Effect of plant growth-promoting Rhizobacteria on plant hormone homeostasis. *South African Journal of Botany*, 113, 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.07.007>
- Tuncer, S., & Eken, C. (2013). Anastomosis grouping of *Rhizoctonia solani* and binucleate *Rhizoctonia* spp . isolated from pepper in Erzincan , Turkey. *Plant Protect. Sci.*, 49(3), 127–131.
- Ullah, A., Mushtaq, H., Ali, U., Ali, E., & Mubeen, S. (2018). Screening , isolation , biochemical and plant growth promoting characterization of endophytic bacteria . *Microbiol Curr Res.*, 2(3), 62–68.
- Veliz, E. A., Martínez-Hidalgo, P., & Hirsch, A. M. (2017). Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. *AIMS Microbiology*, 3(3), 689–705. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2017.3.689>
- Vojvodic, M., Lazic, D., Mitrovic, P., Tanovic, B., Vico, I., & Bulajic, A. (2019). Conventional and real-time PCR assays for detection and identification of *Rhizoctonia solani* AG-2-2, the causal agent of root rot of sugar beet. *Pestic. Phytomed.*, 34(1), 19–29. <https://doi.org/10.2298/pif1901019v>
- Wahyudi, A. T., Astuti, R. I., & Giyanto. (2011). Screening of *Pseudomonas* sp. isolated from rhizosphere of soybean plant as plant growth promoter and biocontrol agent. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 6(1), 134–141. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2011.134.141>
- Wang, W., & M. Sun. (2009). Phylogenetic relationships between *Bacillus* species and related genera inferred from 16s rDNA sequences. *Brazilian Journal of*

- Weller, D. M. (2007). *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens: looking back over 30 years. *Phytopathology*, 97(2), 250–256. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-2-0250>
- Wenke, K., Weise, T., Warnke, R., Valverde, C., D, W., Kai, M., & Piechulla, B. (2012). Bacterial Volatiles Mediating Information Between Bacteria and Plants. In G. Witzany & F. Baluska (Eds.), *Biocommunication of plants, signaling and communication in plants* 14 (pp. 327–346). Springer-Verlag Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-23524-5>
- Wensheng, C., Min, Z., & Lujiang, L. (2013). The resistance to banded leaf and sheath blight in maize of 282 inbred lines. *African Journal of Agricultural Research*, 8(16), 1547–1552. <https://doi.org/10.5897/ajar2013.6789>
- Wu, K., Fang, Z., Guo, R., Pan, B., Shi, W., Yuan, S., Guan, B., Gong, M., Shen, B. and Shen, Q. (2015). Pectin enhances bio-control efficacy by inducing colonization and secretion of secondary metabolites by *Bacillus amyloliquefaciens* SQY 162 in the rhizosphere of tobacco. *PLoS ONE*, 10(5), 1–10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127418>
- Yasmin, S., Hafeez, F. Y., Mirza, M. S., Rasul, M., Arshad, H. M. I., Zubair, M., & Iqbal, M. (2017). Biocontrol of bacterial leaf blight of rice and profiling of secondary metabolites produced by rhizospheric *Pseudomonas aeruginosa* BRp3. *Front Microbiol.*, 8, 1895. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01895>.
- Yin, C., Hulbert, S. H., Schroeder, K. L., Mavrodi, O., Mavrodi, D., Dhingra, A., & Schillinger, W. F. (2013). Role of bacterial communities in the natural suppression of *Rhizoctonia solani* bare patch disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Applied and Environmental Microbiology*, 79(23), 7428–7438.
- Yulistiana, E., Widowati, H., & Sutanto, A. (2020). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) dari akar bambu apus (*Gigantochloa apus*) meningkatkan pertumbuhan tanaman. *BioloVA*, 1(1), 1–7.
- Yusriadi. (2011). Pemanfaatan *Pseudomonas fluorescens* sebagai agens pengendali ramah lingkungan (biokontrol) penyakit tular tanah pada tanaman pisang, jahe dan kacang tanah berk. penel. Hayati Edisi Khusus. 7F: 55 – 59. *Hayati Edisi Khusus.*, 7F, 55 – 59.
- Zeigler, D., & Perkins, J. (2008). *The Genus Bacillus. Practical Handbook of Microbiology, Second Edition*. <https://doi.org/10.1201/9781420009330.ch24>
- Zhang, Z., Liu, L., Lin, H., Yuan, G., Zeng, X., Shen, Y., Zhao, M., Zhao, Q & Pan, G. (2012). Identification of genes differentially expressed in maize (*Zea mays* L.) during *Rhizoctonia solani* Kühn infection by suppression subtractive hybridization. *African Journal of Biotechnology*, 11(12), 2827–2838. <https://doi.org/10.5897/ajb10.1563>
- Zohora, U. S., Ano, T., & Rahman, M. S. (2016). Biocontrol of *Rhizoctonia solani* K1 by iturin a producer *Bacillus subtilis* RB14 seed treatment in tomato plants. *Advances in Microbiology*, 6(May), 424–431.

Lampiran 1. Kurva standar IAA



Lampiran 2. Hasil deteksi senyawa yang dihasilkan bakteri antagonis dengan GC-MS

1. *P. putida* BB.R1

Peak	R. Time	Area %	Name
1	2,575	6,66	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, 6-chloro-N-ethyl- (CAS)
2	2,66	0,7	1H-Indol-2(3H)-one, 3-(1-benzoyl-2-oxopropyl)-3-hydroxy-
3	2,7	0,68	Acetic acid, 4,4a,6b,8a,11,11,12b,14a-octamethyl-3-oxodocosahydricen-2-yl ester
4	2,73	0,48	1-Fluorosulfonyl-3,6-dioxa-[(perfluoro)-4,5-dimethylnonane]
5	2,802	0,59	CHAENORIN
6	2,84	0,01	Octahydro-anthracen-2,3,4a,6,7,8a,9a,10a-octaol
7	2,85	0,01	2-(methylthio)-3-(vinylthio)-thiophene
8	2,86	0,03	Furazan-3-amine, 4-(1-piperidinoyl)-
9	2,9	0,09	10,10'-Dimethyl[3,3](3,8)-isoalloxazinophane
10	2,927	0,24	Pyrimidine-2-thiol, 4,5,6-trimethyl-
11	2,955	0,04	1-(2-{2-[2-(Octane-1-sulfinyl)-ethoxy]-ethoxy}-ethanesulfinyl)-octane
12	2,981	0,28	3-(ETHYLSULFANYL)-1,2,4-THIADIAZOL-5-AMINE
13	3,01	0,06	2-(3-Chloro-benzyl)-5-methyl-4-phenyl-2H-pyrazol-3-ylamine
14	3,025	0,02	1-ALLYL-5-(4-BROMO-BENZYLIDENE)-2-THIOXO-DIHYDRO-PYRIMIDINE-4,6-DIONE
15	3,063	0,15	N-ACETYL-(2',3',4',5',6'-PENTADEUTERIO-4-PHENYL)BUTYLAMINE
16	3,133	0,08	8-CHLORO-1-(4-METHOXY-PHENOXY)-3-NITRO-10H-DIBENZO[B,F][1,4]OXAZEPIN-11-ONE
17	3,145	0,02	(3,5-DIMETHYL-PHENOXY)-ACETIC ACID (5-iodo-furan-2-ylmethylene)-hydrazide
18	3,164	0,09	3-METHYL-1-PHENYL-2,5-PYRROLIDINEDIONE #
19	3,188	0,1	3-Hexenoic acid, 3-methyl-, methyl ester (CAS)
20	3,2	0,05	1-[4-(4-NITRO-PHENOXY)-BENZENESULFONYL]-OCTAHYDRO-QUINOLIN-4-ONE
21	3,222	0,33	5-ACETOXY-6-BROMO-2-DIMETHYLAMINOMETHYL-1-METHYL-1H-INDOLE-3-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
22	3,275	0,23	6-AMINO-4-(4-FLUORO-PHENYL)-3-PYRIDIN-2-YL-1,4-DIHYDRO-PYRANO[2,3-C]PYRAZOLE-5-CARBONITRILE
23	3,296	0,29	11-NOR-8,9.ALPHA.-DRIMANDIOL
24	3,336	0,4	1-[3'-C-(Hydroxymethyl)-3'-desoxy-.alpha.-L-threo-tetrofuranosyl]pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione
25	3,365	0,35	anti11,12, syn4,12-4.EPSILON.,9-Dichlorotetracyclo[5.3.1.1(2,6).0(3,5)]dodec-8-en-11endo,12endo-diol
26	3,405	0,41	N1-[1-(1H-3-Indenyl)-5-methyl-1H-1,2,4-triazol-3-yl]acetamide
27	3,44	0,35	3.beta.-Hydroxylanost-9(11),24(25)-dien-26-oic acid
28	3,468	0,76	2-[(1,5-DIPHENYL-1H-IMIDAZOL-2-YL)SULFANYL]-N-(4-iodophenyl)acetamide
29	3,534	0,34	2-(1H-IMIDAZOL-1-YL)-4-PHENYL-6-(1-PYRROLIDINYL)-1,3,5-TRIAZINE
30	3,55	0,31	(.eta.5-Iodocyclopentadienyl)(dicarbonyl)rhenium dibromide
31	3,594	0,32	Gibbane-1,10-dicarboxylic acid, 2,4a-dihydroxy-1-methyl-8-methylene-, 1,4a-lactone, 10-methyl ester, (1.alpha.,2.beta.,4a.alpha

32	3,62	0,14	3-AMINO-2-METHYL-5,6,7,8-TETRAHYDRO[1]BENZOTHIENO[2,3-D]PYRIMIDIN-4(3H)-ONE
33	3,655	0,37	18-3-Epoxy pregn-9(11)-en-20-one, 3.beta.-methoxy- (5.beta.)-
34	3,685	0,66	4,4,6-Trimethyl-2-(N-methylphenylamino)-5,6-dihydro-4H-1,3-oxazine
35	3,769	1,39	Decanenitrile (CAS)
36	3,87	0,44	5-MERCAPTO-2-TERT-BUTOXYTHIOPHENE
37	3,947	0,56	2-OCTADECYLOXY-1,1,2,2-TETRADEUTEROETHANOL
38	3,965	0,69	2-BROMO-6-ETHOXY-4-(8,9,10,11-TETRAHYDRO-BENZO[A]ACRIDIN-12-YL)-PHENOL
39	4,015	0,18	3-(5-ACETYL-3-AMINO-6-METHYL-2-NITRO-4,7-DIHYDROTHIENO[2,3-B]PYRIDIN-4-YL)BENZONITRILE
40	4,04	0,13	3.alpha.,17.beta.-Dihydroxyandrostane-17-O-glucuronide - per(trimethylsililated) derivative
41	4,06	0,15	Silanamine, N,N,1,1-tetramethyl-1-(pentafluorophenyl)- (CAS)
42	4,081	0,18	3-Oxazolidinecarboxylic acid, 4-(acetyloxy)-2-(1-methylethyl)-, methyl ester, (2R-cis)- (CAS)
43	4,1	0,11	Silane, 2-cyclohexen-1-yltriethyl-
44	4,167	0,35	2-Cyclohexylethanol, dimethyl(ethyl)silyl ether
45	4,2	0,11	Propanoic acid, 3-bromo-, trimethylsilyl ester (CAS)
46	4,215	0,06	Bis(triphenylphosphoranylidene)ammonium azide
47	4,225	0,06	2-[(4-METHOXY-6-METHYL-2-QUINAZOLINYL)AMINO]-1H-IMIDAZOL-5-OL
48	4,3	0,51	Dichotine, 2-deoxy-2,21-epoxy-, (21.alpha.)- (CAS)
49	4,315	0,08	1-METHYL-4-NITRO-N-(3-PHENOXYPHENYL)-1H-IMIDAZOLE-5-CARBOXAMIDE
50	4,324	0,09	Phosphorotrithious acid, tributyl ester (CAS)
51	4,334	0,29	5-(4-BROMOBENZYLIDENE)-7-METHYL-5H-INDENO[1,2-B]PYRIDINE
52	4,4	0,26	Pregnane-3,11,20,21-tetrol, cyclic 20,21-[[1,1-dimethylethyl]boronate], (3.alpha.,5.alpha.,11.beta.,20R) (CAS)
53	4,465	0,36	D-arabino-Hexose, 2-deoxy-3,4,5-tris-O-(trimethylsilyl)-, O-methyloxime, 6-[bis(trimethylsilyl) phosphate] (CAS)
54	4,484	0,14	Cholest-2-eno[2,3-b]quinoxaline, 5',8'-dichloro-
55	4,5	0,09	1-(HYDRAZINODICARBOXYLIC ACID DIETHYL ESTER)-3-(HYDRAZINODICARBOXYLIC ACID DIMETHYL ESTER)-2-(2,3-DIMETHYLPHENYL)-ISOINDOLE
56	4,525	0,11	2-(6-BROMO-9-METHYL-9H-1,3,4,9-TETRAAZA-FLUOREN-2-YLSULFANYL)-N-(4-SULFAMOYL-PHENYL)-ACETAMIDE
57	4,56	0,15	3-(1-Ethyl-1-methyl-4-piperidin-1-yl-but-2-ynyloxy)-propionitrile
58	4,585	0,22	1,2-bis{[(3'-(Methylthio)-2'-{(4"-methoxycarbonyl)phenyl}-3'-thioxoprop-1'-enyl]amino]-ethane
59	4,661	0,28	Molybdenum, [(1,2,3,3a,7a-eta.)-2-methyl-1H-inden-1-yl]bis(.eta.3-2-propenyl)-
60	4,67	0,07	DODECYLDIGLYCOL
61	4,68	0,06	1-[1-(4,6-Di-morpholin-4-yl-[1,3,5]triazin-2-yl)-5-methyl-1H-[1,2,3]triazol-4-yl]-ethanone
62	4,701	0,25	Piperazine, 1-(aminoacetyl)-
63	4,755	0,21	2,6-Dimethyl-10-methylene-12-oxatricyclo[7.3.1.0(1,6)]tridec-2-ene
64	4,775	0,13	.ZETA.-PYRROMYCINONE

65	4,811	0,22	4-[2-(4-METHOXY-PHENYL)-ETHYL]-1-(4-PHENYL-THIAZOL-2-YL)-PIPERIDINE
66	4,855	0,48	Benzene, 1-ethoxy-2-nitro-
67	4,903	0,19	(Z)-1-Morpholino-1-propenyl-1-cyclohexanol
68	4,93	0,34	.alpha.-ZOL -TMS derivative
69	4,955	0,22	5-[(3-CHLORO-2-METHYL-PHENYL)-HYDRAZONO]-1-(2-HYDROXY-ETHYL)-4-METHYL-2,6-DIOXO-1,2,5,6-TETRAHYDRO-PYRIDINE-3-CARBONITRILE
70	4,98	0,15	Pyrimido[1,2-a]azepine, 2,3,4,6,7,8,9,10-octahydro-
71	5,06	0,88	bis(trimethylsilyl)-2-[hydroxy-(ethoxy)phenyl]-2-hydroxyphenylpropane
72	5,105	0,32	TUNGSTEN, TRIS(CYCLOOCTATETRAENE)BIS-
73	5,155	0,15	1H-ISOINDOLE, 2-[4-[2-(AMINOCARBONOTHIOYL)HYDRAZONO]-6,8-DIOXABICYCLO[3.2.1]OCT-2-YL]-2,3-DIHYDRO-1,3-DIOXO-11-(6-CHLORO-1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-3-(3,4,5-TRIMETHOXYPHENYL)-2,3,4,5,10,11-HEXAHYDRO-1H-DIBENZO[B,E][1,4]DIAZEPIN-1-ONE HYDROC
74	5,166	0,1	
75	5,175	0,09	5-(Cyclopent-2'-enyl)-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione
76	5,215	0,35	2-TERT-BUTYL-5-[2-[2-(2-TERT-BUTYL-2H-TETRAZOL-5-YL)-ETHOXY]-ETHYL]-2H-TETRAZOLE
77	5,245	0,38	5-Stannaspiro[4.4]nona-1,3-diene, 6,6,9,9-tetrakis(trimethylsilyl)-
78	5,28	0,1	Dithione
79	5,301	0,33	Thiazolo[5,4-d]pyrimidine, 2-(butylamino)-5-(butylthio)- (CAS)
80	5,359	0,44	Nonanoic acid, 9-oxo-, ethyl ester (CAS)
81	5,379	0,07	4-(azidoacetyl)-2,5-dioxo-3-methyl-1,4-diazabicyclo[5.3.0]decane
82	5,42	0,4	METHYL 7-ETHYL-10-HYDROXY-11-HYDROXY(18O)-3,11-DIMETHYL-2,6-TRIDECADIENOATE
83	5,45	0,05	2-METHYL-5-OXO-7-THIOPHEN-2-YL-4-THIOPHEN-3-YL-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID CYCLOPENTYL ESTER
84	5,471	0,2	3-Methyl-4-nitro-5-(1-pyrazolyl)pyrazole
85	5,49	0,11	17.beta.-Acetoxy-3.beta.,19-epoxy-3.alpha.-methoxy-4,4-dimethyl-5.alpha.,13.alpha.-androst-8-en-7.alpha.-ol
86	5,5	0,09	2-Methylsulfonyl-5-dimethylamino methyleneaminopyrimidine
87	5,51	0,17	2(1H)-Pyridinone, 3,5,6-trichloro- (CAS)
88	5,539	0,28	Thiazolidine-5-carboxylic acid, 2-(3-bromophenyl)-
89	5,57	0,1	2-(METHYLSULFANYL)-1-[2-OXO-2-(1-PIPERIDINYL)ETHYL]-1H-BENZIMIDAZOLE
90	5,612	0,52	1,5-Anhydro-4,6-di-O-acetyl-2,3-di-O-methyl-D-glucitol
91	5,66	0,44	7-(CHLORO-DIFLUORO-METHYL)-5-FURAN-2-YL-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDINE-2-CARBOXYLIC ACID [3-(2-OXO-PYRROLIDIN-1-YL)-PROPYL]-AMIDE
92	5,697	0,39	Thiazole, 4-methyl-2-propyl- (CAS)
93	5,729	0,44	(4S,4aS,8aS)-1,2,3,4,4a,5,8,8a-Octahydro-3,3,4-trideuterio-4-[(trideuterio)methyl]-4,8a-dimethylnaphthalen-4a-ol
94	5,781	0,1	3,4-Diethyl-2,5-bis(dimethylamino)-1,2,5-thiadiborolene-tricarbonyliron
95	5,79	0,14	1-Dodecanol, 4-methyl-, 4-methylbenzenesulfonate
96	5,845	0,36	2-AMINO-1-(DIMETHYLAMINO)-4-[5-ETHYL-2-(ETHYLSULFANYL)-3-THIENYL]-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-3-QUINOLINECARBONITRILE

97	5,87	0,22	2-(4-BROMO-3-METHYL-1H-PYRAZOL-1-YL)-N-{1-[4-(1H-PYRROL-1-YL)PHENYL]ETHYL}PROPANAMIDE
98	5,91	0,39	[1,2,3,4]Tetrathiine
99	5,96	0,26	Lanostan-1-one (CAS)
100	6,025	0,59	Tetrazole, 5-(3,5-dimethylpyrazol-1-yl)-
101	6,08	0,52	10-Octylundec-10-enoic acid, methyl ester
102	6,11	0,23	6-(2,5-DIMETHOXY-PHENYL)-3-METHYL-4-OXO-4,5,6,7-TETRAHYDRO-1H-INDOLE-2-CARBOXYLIC ACID TETRAHYDRO-FURAN-2-YLMETHYL ESTER
103	6,161	0,82	Propanamide, N-(4-fluorophenyl)-3-(4-phenyl-1-piperazinyl)-
104	6,22	0,57	4,7,7-TRIMETHYLBICYCLO[2.2.1]HEPTAN-2-ONE
105	6,28	0,32	METHYL CATIVATE
106	6,29	0,07	Bis[N,N'-Dibutylthiocarbonylthia]cobaltane
107	6,315	0,26	25-Hydroxyergocalciferol
108	6,36	0,52	DIMETHYL ESTER OF 3,5-DIMETHYL-1,7-HEPTANDIOIC ACID
109	6,385	0,23	2-(4-ETHOXYCARBONYL-PIPERAZIN-1-YLMETHYL)-5-HYDROXY-1-PHENYL-1H-INDOLE-3-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
110	6,395	0,44	5-{5-[4-(2-Methoxycarbonyl-ethyl)-3a,6a-dimethyl-2-oxo-3,3a,4,6a-tetrahydro-2H-thieno[2,3-b]pyrrol-5-ylmethylene]}-4,4-dimethyl
111	6,465	0,57	5-Methylperhydrothioxanthene
112	6,49	0,25	N-(3-BENZOTHAZOL-2-YL-6-METHYL-4,5,6,7-TETRAHYDRO-THIENO[2,3-C]PYRIDIN-2-YL)-4-(3,5-DIMETHYL-PIPERIDINE-1-SULFONYL)-BENZAMIDE
113	6,58	1,14	Pregna-5,16-dien-20-one, 3-[(trimethylsilyl)oxy]-, O-methyloxime, (3.beta.)- (CAS)
114	6,631	0,57	2,4-DICHLORO-5-DIMETHYLSULFAMOYL-N-(4-P-TOLYL-THIAZOL-2-YL)-BENZAMIDE
115	6,655	0,26	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-ylmethyl ester, (Z,Z,Z)- (CAS)
116	6,675	0,31	2,3-Diazabicyclo[3.2.0]hept-2-ene, 1,6,6-trifluoro-4-spirocyclopropane-
117	6,705	0,35	L-Valine, N-[(2,4,5-trichlorophenoxy)acetyl]-, methyl ester (CAS)
118	6,73	0,86	D-ribo-Hexitol, 2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2,3-dideoxy-, 4,6-diacetate
119	6,808	0,56	1-acetyl-2-benzyloxyethyl-dihydroindole-3-spiro-1'aza-5'methylene-bicyclo[4.3.0]nonane-9'-one
120	6,82	0,12	Dimethyl 2-[(E)-2'-Phenylethenyl]-bicyclo[5.5.1]trideca-1,3,5,7,9,11-hexaene-4,5-dicarboxylate
121	6,854	0,4	Methyl 12-[5' / 3'-(3''-(methoxyphenyl)pyrazol]-3 / 5-dehydroabietate
122	6,885	0,33	Stigmasta-4,22-dien-3-one, 4-methyl-, (22E,24R)- (CAS)
123	6,895	0,14	17-Norcorynan, 16-(2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)-, [16(R),20.beta.]- (CAS)
124	6,905	0,12	8-[(3-ETHOXYPROPYL)AMINO]-1,3-DIMETHYL-3,9-DIHYDRO-1H-PURINE-2,6-DIONE
125	6,93	0,29	1-(1-BENZOFURAN-2-YL)-3-[4-(4-PYRIDINYLMETHYL)ANILINO]-1-PROPANONE
126	6,975	0,63	Acetamide, 2-(3-oxo-4-propyl-2-morpholyl)-N-phenyl-
127	7,035	0,7	MYRTIFOLOL
128	7,074	0,4	O-[5-(3-CHLORO-4-METHYLANILINO)-1-METHYL-1H-PYRAZOL-3-YL] O,O-DIETHYL THIOPHOSPHATE

129	7,131	1,06	bis(t-Butyl)l 2-(diethoxyphosphoryl)-3-(2',3'-dioxo-2',3'-dihydro-1H-indol-1'-yl)-succinate
130	7,205	1,18	2-(4-Chlorophenylamino)-3,5-dihydroxy-5,5-dimethyl-3-phenyl-6H-imidazo[1,2-b]-1,2,4-triazol-6-one
131	7,27	0,36	tricarbonyl[.eta.(4)-4,5-diethyl-2,5-dihydro-3-isopropenyl-2,2-dimethyl-1,2,5-selenasilaborole]ruthenium
132	7,295	0,37	4-Phenoxyacetylmorpholine
133	7,315	0,26	Androst-4-en-3-one, 17-(acetyloxy)-19-[(methylthio)methoxy]-, (17.beta.)-
134	7,35	0,43	Isopropyl stearate
135	7,375	0,18	Cyclohexylsulfide, decyl-
136	7,399	0,35	Bidrin
137	7,454	0,43	Pentane-2,4-dione, 3-bis(cyclohexylamino)methylene-
138	7,465	0,09	2-Diethoxymethyl-pyridin-1-ol
139	7,485	0,39	Benzoic acid, 4-[(trifluoroacetyl)oxy]- (CAS)
140	7,525	0,28	2-METHYL-5-NITRO-N-(4-PYRIDIN-4-YLMETHYL-PHENYL)-BENZENESULFONAMIDE
141	7,545	0,18	HEXADECANOIC ACID, 1A,2,5,5A,6,9,10,10A-OCTAHYDRO-5,5A-DIHYDROXY-4-(HYDROXYMETHYL)-1,1,7,9-TETRAMETHYL-11-OXO-1H-2,8A-METHANOCY
142	7,565	0,46	3-Dimethylsilyloxytetradecane
143	7,649	0,82	Boron, 1,5-cyclooctanediyl(1H-pyrazolato-N1)(1H-pyrazole-N2)-, (t-4)- (CAS)
144	7,679	0,79	2-(Benzo[1,2,5]thiadiazole-4-sulfonylamino)-pentanoic acid
145	7,724	0,57	Cobalt, bis(9-ethylfluorenyl)-
146	7,763	0,54	MACROPHYLLIC ACID E
147	7,838	0,21	Carbonic acid, thio-, O-methyl O-phenyl ester (CAS)
148	7,849	0,06	Aspidospermidin-21-ol, 17-methoxy- (CAS)
149	7,859	0,18	5'-(Dimethylamino)-3',4'-dihydro-2'-oxospiro[cyclopentane-1,4'-[2H]imidazolium]-trifluoroacetamidate
150	7,906	0,1	3-Oxobutyric acid, 2-(2-oxocycloheptyl)methyl-, ethyl ester
151	7,95	0,33	Stannane, methyltris(1-methylethyl)- (CAS)
152	7,978	0,35	2'-Methyl-6'-(1-phenylethyl)actophenone
153	8,04	0,28	Purine-2-acetamide, 9-[.beta.-d-ribofuranosyl]-
154	8,064	0,31	2-Chloro-3-(chloromethoxy)cyclohex-2-en-1-one
155	8,111	0,29	1,2,3-Cyclohexanetrione, 5,5-dimethyl-, 2-(2-trifluoromethylphenyl)hydrazone
156	8,15	0,37	5,7-Dichloro-4,6-dinitro-benzo[1,2,5]oxadiazole 1-oxide
157	8,17	0,11	Bicyclo[3.3.0]octane, 3-(1-phenyl-1-trimethylsilylmethylene)-
158	8,181	0,1	Dimethyl 8,9-dibromo-11,16-dimethoxyundecacyclo[9.9.0.0(2,9).0(3,7).0(4,20).0(5,18).0(6,16).0(8,15).0(10,14).0(12,19).0(13,17)]
159	8,208	0,43	Octanoic acid (5-azepan-1-yl-furan-2-ylmethylene)-hydrazide
160	8,255	0,19	3-(2-(3,7-diacetoxy-1-octenyl)-3,5-di(acetoxy)cyclophenyl)propanoic acid methyl ester
161	8,28	0,36	Iron, (.eta.-4-1,3-butadiene)(.eta.-4-1,3,6-heptatriene)(triethylphosphine)
162	8,325	0,21	4,7-Dibromo-benzo[1,2,5]selenadiazole
163	8,383	0,75	4,15-Diazacycloheptadecane-3,16-dione, 4,15-dihexyl-1-oxo
164	8,41	0,43	Stannane, hydroxytriphenyl- (CAS)

165	8,456	0,41	4,5,5-D3-TRANS-3,4-DIHYDROXY-CYCLOPENTENE
166	8,541	1,09	3,3-Dimethyl-5-methylthio-2-aza-1,3-diazoniacyclopentadien-1,4-diolate
167	8,606	0,39	1-METHYL-4-NITRO-N-(3-PHENOXYPHENYL)-1H-PYRAZOLE-5-CARBOXAMIDE
168	8,63	0,29	6,7-DIMETHYL-7,9-DIHYDRO-1,2,4-TRIAZOLO[4,3-B]-1,2,4-TRIAZEPIN-8-ONE
169	8,672	0,43	Methdilazine
170	8,73	0,32	2,3-BIS(P-CHLOROPHENYL)QUINOXALINE
171	8,752	0,3	P,P-DIIMIDAZOL-1-YL-N,N-DIISOPROPYL PHOSPHINOTHIOIC AMIDE
172	8,79	0,25	3-(Ethoxycarbonyl)-8-(piperidylazo)-5-methyl-4,5-dihydroimidazo[1,5-a]benzo[f][1,4]diazepin-6-one
173	8,815	0,29	3-[2-(5-BROMO-2-METHYL-1H-INDOL-3-YL)-ETHYL]-4-HYDROXY-4,5,5-TRIMETHYL-OXAZOLIDIN-2-ONE
174	8,845	0,23	(S)-.ALPHA.-(2-CHLOROPHENYL)-6,7-DIHYDROTHIENO[3,2-C]PYRIDINE-5(4H)-ACETIC ACID METHYL ESTER
175	8,854	0,12	10-Methoxycamptothecin
176	8,944	1,09	3-Acetyl-9-isopropylcarbazole
177	8,965	0,23	R-(+)-Hexadecyl-3-isopropyl-6-oxoheptanoate
178	9,061	1,11	1-(N-Methylanilino)-5-oxohexa-1,3-dienyl acetate
179	9,085	0,58	Acetic acid, 2-[7-(acetyloxy)-4b-methyl-2-oxo-2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,8a,9,10-dodecahydro-1-phenanthrenyl]-, methyl ester
180	9,16	0,69	1,1'-Dichloro-2,2'-bis(phenylthio)-1,1'-bis(cyclopropyl)
181	9,212	0,27	1,3,4,6-Tetra-O-acetyl-2-azido-2-deoxy-.alpha.-D-galactopyranose
182	9,24	0,2	METHYL ESTER OF 2-OXOTETRAHYDROPYRANYL-6-ACETIC ACID
183	9,27	0,66	Butanedioic acid, mono(3-phenyl-2-propeny) ester
184	9,33	0,52	Tricyclo[4.4.0.0(2,8)]decan-5-ol
185	9,43	0,75	1,4,5-Metheno-1H-cyclopropa[a]pentalene, 1,1a,3,5,5a,6-hexachlorooctahydro- (CAS)
186	9,46	0,24	Benzothiophene-3-carboxamide, 4,5,6,7-tetrahydro-5-tert-butyl-2-cyclohexanoylamino-
187	9,481	0,09	2-Amino-5-cyano-6-(4-bromophenyl)-4-methylsulfanyl-4H-pyran-3-ylphenylphosphinic acid dimethyl ester tetrafluoroborate
188	9,49	0,08	Dimethyl 6,10-diphenylheptalene-4,5-dicarboxylate
189	9,55	0,98	ACENAPHTENE, 5-(4-BROMOBENZYLIDENAMINO)-
190	9,606	0,31	1-Azabicyclo[2.2.2]oct-2-ene-3-carboxylic acid, methyl ester (CAS)
191	9,64	0,17	Octanoic acid (CAS)
192	9,649	0,09	N-(4-Amino-furazan-3-yl)-2-(5-amino-[1,3,4]thiadiazol-2-ylsulfanyl)-acetamide
193	9,66	0,12	5-(1-Ethyl-6-nitrobenz[cd]indol-2(1H)-ylidene)-2,2-dimethyl-1,3-dioxane-4,6-dione
194	9,69	0,46	2-[[[(4-methoxyphenyl)thio]methyl]-2,3-dihydrobenzofuran
195	9,729	0,34	6-ACTAMIDO-6-PROPYLTRIDECAENE
196	9,75	0,1	5(Z)-[(1-4-Hydroxy-2(E)-butenyl)pentylidene]-4-methoxy-2,3,4-trimethyl-2-cyclopenten-1-one
197	9,779	0,44	D-glucitol, 3,7-anhydro-1,4-dideoxy-2-C-methyl-, 5,6,8-triacetate 2-(3,5-dinitrobenzoate) (CAS)

198	9,815	0,22	3-Pyrrolidineacetic acid, .alpha.-amino-5-carboxy-2-oxo-, [3R-[3.alpha.(S*),5.alpha.]]- (CAS)
199	9,865	0,49	Carveol, dihydro-, cis-
200	9,936	1,16	2-HYDROXYIMINO-N-(P-METHOXYPHENYL) ACETAMIDE
201	9,995	0,44	1,1-Diphenyl-1-butene
202	10,03	0,66	Phosphoric acid, 2-(methoxyimino)ethyl bis(trimethylsilyl)ester (CAS)
203	10,102	0,39	2-(1-Methyl-5-pyrazolecarboxamido)benzoic acid
204	10,12	0,35	Diphenylhydrazine, N,N'-bis(diethylboryl)-
205	10,164	0,34	10-((Mesyloxy)methyl)-.delta.-octal-2-one
206	10,189	0,21	[4-(Dimethylamino)-a-(P-toluidino)benzyl](diphenyl)phosphine oxide
207	10,201	0,27	BIS(HAPTO-3-ALLYL)-HAPTO-5-CYCLOPENTADIENYL-MOLYBDENUM-(III)
208	10,245	0,35	9-METHYL-11-(1-CYANO-2-METHOXY-2-OXOETHYLIDENE)-8-OXA-10-AZATRICYCLO[7.3.1.0(2,7)]TRIDECA-2,4,6-TRIENE-12-CARBOXAMIDE
209	10,275	0,29	l-Methionine, N-(5-chlorovaleryl)-, methyl ester
210	10,309	0,42	3,5-Dibromolevulinic acid
211	10,365	0,41	MACROPHYLLIC ACID C
212	10,391	0,26	Spiro[benzofuran-3(2H),1'-[2,5]cyclohexadiene]-5-carboxylic acid, 6-hydroxy-2'-methoxy-2,4'-dioxo-4-pentyl-, methyl ester (CAS)
213	10,44	0,33	Pregn-4-ene-3,11-dione, 17,20,21-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, (20R)-(CAS)
214	10,465	0,14	Methanesulfenamide, 1,1,1-trichloro-
215	10,485	0,32	(1H-[1,2,4]TRIAZOL-3-YLSULFANYL)-ACETIC ACID (1-THIOPHEN-2-YL-ETHYLIDENE)-HYDRAZIDE
216	10,527	0,53	4-HYDROXYMELLEIN
217	10,555	0,32	5H-Dibenz[b,f]azepine-5-propanamine, 10,11-dihydro-N-methyl- (CAS)
218	10,584	0,57	Tungsten, tricarbonyl[(1,2,3,4,5,6-.eta.)-1,4-dimethylbenzene]- (CAS)
219	10,65	0,22	Benzene, 1,4-dibromo- (CAS)
220	10,675	0,17	Buspirone
221	10,695	0,03	2,2'-(1,3-Phenylene)bis[4-(2-thienylmethylene)-5(4H)-oxazolone]
222	10,705	0,03	Lanost-8-en-26-oic acid, 12-hydroxy-3-(3-methoxy-1,3-dioxopropoxy)-24-methylene-, methyl ester, (3.alpha.,12.alpha.)- (CAS)
223	10,736	0,13	3,4-Pyridinedicarboxylic acid, 5-hydroxy-6-methyl- (CAS)
224	10,768	0,29	1-(p-Cumenyl)adamantane
225	10,83	0,29	(-)-(1R,5R,6R,7S,10R)-7-Isopropyl-10-methyltricyclo[4.4.0.0(1,5)]dec-3-en-4-trifluoromethanesulfonate
226	10,86	0,21	3-[4-(4-CHLORO-PHENYL)-PIPERAZIN-1-YL]-N-(2-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL)-PROPIONAMIDE
227	10,893	0,16	3,6-Epoxy-2H-naphth[2,1-c]oxocin, tetradecahydro-3,9,9,12a-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,6.alpha.,6a.beta.,8a.alpha.,12a.beta.,12
228	10,92	0,39	(Z)14-Tricosenyl formate
229	10,957	0,34	Oncinotine
230	11,039	0,49	N-(2,6-Dimethoxy-4-pyrimidinyl)-4-(salicylideneamino)benzenesulfonamide
231	11,065	0,16	2,5-CYCLOHEXADIENE-1,4-DIONE, 2,3,5,6-TETRACHLORO-
232	11,099	0,2	(4-18O)PENTAACETYLGLUCOSE
233	11,115	0,24	Methyl 2,3-di-O-acetyl-4,6-di-O-ethyl-.alpha.-d-mannopyranoside

234	11,181	0,09	Cyclohexanone, 3-methyl-, (2,4-dinitrophenyl)hydrazone (CAS)
235	11,19	0,12	4H-Thiopyran-4-one, 1,1-dioxide (CAS)
236	11,263	0,54	D-6-[n-Propionylaminothiocarbonyl]-8-methoxycarbonyl ergoline
237	11,345	0,12	Molybdenum, bromotricarbonyl(.eta.5-2,4-cyclopentadien-1-yl)- (CAS)
238	11,37	0,05	1,1-Dibromo-2-ethylbut-1-ene
239	11,391	0,06	N-Desmethyldesmethylclomipramine ac.
240	11,4	0,05	2-[3-Acetyl-2-(4-bromo-phenyl)-4-hydroxy-5-oxo-2,5-dihydro-pyrrol-1-yl]-acetamide
241	11,422	0,26	.alpha.-D-Galactopyranoside, methyl-4-O-decyl-
242	11,465	0,2	UNDECANEDIOIC ACID, DIMETHYL ESTER
243	11,512	0,28	Bis(2,2-dichlorohexyl) 2,2-Dimethylcyclopropane-1,1-dicarboxylate
244	11,54	0,21	Dihydrocholesterol
245	11,551	0,11	ALPHA-DL-1-METHYL-5-ALLYL-5-(1'-METHYLPENTYN-2-YL)BARBITURIC ACID (METHOHEXITAL) (CAS)
246	11,56	0,1	5-methyl-3-isopentyl-2-[Z-4-methyl-(1,2,3,3-tetradeuterio)pent-1-enyl]pyrazine
247	11,59	0,34	3H-Indol-3-one, 2-[(1,2-dimethyl-3-piperidinyl)methyl]- (CAS)
248	11,63	0,45	L-Tryptophan, N-[(dimethylamino)methylene]-, methyl ester (CAS)
249	11,665	0,08	4(1H)-Isobenzofuranone, hexahydro-3a,7a-dimethyl-, cis-(.+-.)- (CAS)
250	11,675	0,39	5.alpha.-Cardanolide, 3.beta.,14,19-trihydroxy- (CAS)
251	11,735	0,07	1.BETA.-METHYL-1.ALPHA.,5.BETA.-CYCLO-17.BETA.-ACETOXY-10.ALPHA.-ANDROST-3-ENE-2-ONE
252	11,745	0,08	TRANS-CYCLOPENTEN-3,4-DIOL
253	11,765	0,21	TRISTRIMETHYLSILYL ETHER DERIVATIVE OF 1,25-DIHYDROXYVITAMIN D2
254	11,813	0,28	2-(1-PIPERIDINYLCARBOTHIOYL)HYDRAZINECARBOTHIOAMIDE
255	11,827	0,07	2,4-Pentadienoic acid, 2,3,4,5,5-pentachloro-, methyl ester
256	11,851	0,29	2-(3,5-DICHLORO-2-PYRIDINYL)-N-[4-(TRIFLUOROMETHOXY)PHENYL]HYDRAZINECARBOTHIOAMIDE
257	11,911	0,15	Acetic acid, 4-methoxy-1,4,4a,5,8a-hexahydronaphthalen-1-yl ester
258	11,985	0,55	Adenosine, 2'-O-methyl- (CAS)
259	12,07	0,42	BORANAMINE, N-1-CYCLODECEN-1-YL-N-CYCLOHEXYL-1,1-DIETHYL-
260	12,111	0,31	Nigakilactone A
261	12,15	0,23	7-Hydroxy-6-keto-drimanol
262	12,161	0,07	3-Phenylpropenoic acid, 2-(diethoxyphosphinyl)-, ethyl ester
263	12,185	0,15	1H-Pyrrole-2,4-dicarboxylic acid, 3,5-dimethyl-, diethyl ester (CAS)
264	12,195	0,07	Tris(cyclopentadienyl-cobalt)-hexapropenylbenzene
265	12,235	0,32	2-[2'-(2"-Methyl-3"-phenyl-1",2",3".4"-tetrahydronaphthyl)]chromone
266	12,265	0,36	3-(2-(3-(trimethylsiloxy)1-octenyl)-4-(trimethylsiloxy)-6-oxo-5,6-dihydro-1,4-pyran-3-yl)propanoic acid methyl ester
267	12,336	0,4	9H-Carbazole, 3,6-dinitro- (CAS)
268	12,366	0,17	3.beta.-Hydroxy-Eudesm-4(15)-ene - 4-(Methoxycarboxylate)
269	12,375	0,09	Tungsten, tris(.pi.-allyl)(.eta.-3-acetato)-
270	12,386	0,1	ENDO-5-(BROMOETHYL)-ENDO-3-CHLORO-EXO-6-(CHLOROMETHYL)-EXO-2-NORBORNANOL
271	12,395	0,1	Ethyl 2-butyramido-3,3,3-trifluoro-2-(4-fluoroanilino)propionate

272	12,446	0,49	2-(tert-butylaminoxy)-3,3-dimethylbutyranilid
273	12,455	0,13	3.alpha.,4.alpha.,9.beta.,11-Diepoxyuurolan-10-ol
274	12,465	0,42	7-(CHLORO-DIFLUORO-METHYL)-5-THIOPHEN-2-YL-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDINE-2-CARBOXYLIC ACID (TETRAHYDRO-FURAN-2-YLMETHYL)-AMIDE
275	12,518	0,13	1,3-Diethyl-2-phenyl-4,5-bis-(2,6,10-trimethyl-undeca-1,5,9-trienyl)-imidazolidine
276	12,57	0,43	Propionaldehyde, 3-[(3-hydroxy-6-methyl-2-pyridyl)thio]- (CAS)
277	12,64	0,89	3,5,9-Trioxa-4-phosphapentacosan-1-aminium, 4-hydroxy-N,N,N-trimethyl-10-oxo-7-[(1-oxohexadecyl)oxy]-, hydroxide, inner salt, 4
278	12,65	0,38	Hydroxy - hexadecan - one
279	12,685	0,62	(2R,5R,.alpha.R)-2-(tert-Butyl)-5-(.alpha.-hydroxy-p-methoxybenzyl)-1-aza-3-oxa-7-thiabicyclo[3.3.0]octan-4-one
280	12,714	0,14	17-Norcorynan, 16-(2,3,4,9-tetrahydro-1H-pyrido[3,4-b]indol-1-yl)-, [16(S),20.beta.]- (CAS)
281	12,737	0,47	trans-5-oxo-2,3,4,4a,5,7,8,13,13b,14-decahydro-1H-pyrido[1'',2'':4',5']pyrazino[1',2':1,2]pyrido[3,4-b]indole
282	12,79	0,76	1,1'-Biphenyl, 2,2',5-trichloro- (CAS)
283	12,84	0,49	Decipinone 1
284	12,875	0,2	2-[3-(2-CYANO-3-OXO-3-PYRROLIDIN-1-YL-PROPENYL)-INDOL-1-YL]-N-(TETRAHYDRO-FURAN-2-YLMETHYL)-ACETAMIDE
285	12,899	0,13	9-Octadecenoic acid (Z)-, hexadecyl ester (CAS)
286	12,926	0,28	4,4'-(Methylenedi-4,1-phenylene)bis[1-(2,2,6,6-tetramethyl-4-piperidylidene)semicarbazide]
287	12,955	0,2	5-Germaspiro[4.4]nona-1,3,6,8-tetraene, 2,7-diethyl-1,4,6,9-tetramethyl-
288	12,985	0,2	Imidazo[4,5-d]imidazole-2,5(1H,3H)-dione, tetrahydro-1-cyclohexyl-
289	13,04	0,37	N-Retinoyl DL-phenylalanine (all-trans)
290	13,069	0,21	(+)-(4RS,5SR)-5',5'-Dimethoxy-2,2,5-trimethyl-3',4'-dihydrospiro[1,3-dioxolan-4,2'(1'H)-naphthalen]-8'(5'H)-one
291	13,095	0,1	3,7-BIS(DIMETHYLAMINO)-1,9-DIMETHYLPHENOTHIAZIN-5-IUM CHLORIDE
292	13,125	0,06	Hexadecanoic acid, 2-(octadecyloxy)ethyl ester (CAS)
293	13,15	0,12	ISOBUTYL-(5-MORPHOLIN-4-YL-1,2,3,4-TETRAHYDRO-7-THIA-6,9,10,11-TETRAAZA-BENZO[C]FLUOREN-8-YL)-AMINE
294	13,179	0,19	3,5,9-Trioxa-4-phosphapentacosan-1-aminium, 4-hydroxy-N,N,N-trimethyl-10-oxo-7-[(1-oxohexadecyl)oxy]-, hydroxide, inner salt, 4

2. *P. putida* PPD.B

Peak	R. Time	Area %	Name
1	2,53	0,38	PROPENE 3,3,3-D3
2	2,559	0,22	1H-3a,7-Methanoazulene, octahydro-1,9,9-trimethyl-4-methylene-, (1.alpha.,3a.alpha.,7.alpha.,8a.beta.)- (CAS)
3	2,595	0,35	Silane, bis((E)-pinocarboxy)phenyl-
4	2,63	0,6	Propane, 3-bromo-1-chloro-1,1-difluoro- (CAS)
5	2,645	0,12	5-[(N,N-Dimethylamino)methylene]tricyclo[4.1.0.0(1,3)]heptan-4-one
6	2,67	0,34	Methohexitone-permethyated
7	2,69	0,31	Benzene, 1-(chloromethyl)-2-methoxy-, trichloro deriv. (CAS)
8	2,721	0,22	2,5-Methano-2H-thieno[3,2-b]thiopyran-8-ol, hexahydro-, acetate, (2.alpha.,3a.beta.,5.alpha.,7a.beta.,8R@)-
9	2,73	0,32	(1RS,8RS,9SR,12SR)-9-exo,12-anti-Dimethoxy-10,11-dimethylidenetricyclo[6.3.1.0(2,7)]dodec-2(7)-ene-1,4,5,5-tetracarbonitrile
10	2,76	0,2	1H-1,2,4-TRIAZOLE-1-ACETAMIDE, N-(2-HYDROXYETHYL)-3-NITRO-
11	2,77	0,14	3-(3,4-DICHLORO-PHENYL)-1-(5-METHYL-4,5-DIHYDRO-THIAZOL-2-YL)-1-(4-TRIFLUOROMETHOXY-PHENYL)-UREA
12	2,79	0,34	PELTGERIN
13	2,83	0,5	2-(t-Butyl)-3H-indole-3-oxime
14	2,859	0,45	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N-ethyl-6-methoxy-N'-(1-methylethyl)- (CAS)
15	2,904	0,34	Naphtho[2,3-b]furan-2-one, 3-[[2-(4-methoxyphenyl)ethylamino]methyl]-8a-methyl-5-methylenedecahydro-
16	2,938	0,18	Lanost-8-en-26-oic acid, 12-hydroxy-3-(3-methoxy-1,3-dioxopropoxy)-24-methylene-, methyl ester, (3.alpha.,12.alpha.)- (CAS)
17	2,967	0,18	Cryptoechinuline C
18	3	0,24	5-Ethoxy-cyclooctene
19	3,054	0,43	D-Galactopyranoside, methyl 2-(acetylamino)-2-deoxy-1-thio- (CAS)
20	3,11	0,08	1(Z)-(5-Chloropentenyl)-3,3,4,4-tetramethyl-2,5-dioxaborolane
21	3,16	0,49	3-AMINO-2-(5-CYANO-2-METHYL-6-METHYLSULFANYL-PYRIDINE-3-CARBONYL)-6-HYDROXY-THIENO[2,3-B]PYRIDINE-5-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
22	3,18	0,23	1-(3,4-DICHLORO-PHENYL)-3-[1,2,4]TRIAZOL-4-YL-UREA
23	3,22	0,48	19-Norpregn-4-en-20-yn-3-one, 17-hydroxy-, (17.alpha.)- (CAS)
24	3,266	0,85	Pentanamide, N-[1-(4,5,6,7-tetrahydro-3-cyano-2-benzothiénylamino)-2,2,2-trifluoro-1-trifluoromethyl]ethyl-
25	3,337	1,51	Methylmethyleneaminato[(p-chlorophenyl)phenylmethoxy]bis(trifluoromethyl)borinate
26	3,459	1,74	Cholesta-9(11),17(20),24-triene-3,6-diol, diacetate, (3.beta.,5.alpha.,6.alpha.)- (CAS)
27	3,49	0,46	N-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-2-[7-(2-ETHYL-HEXYL)-1,3-DIMETHYL-2,6-DIOXO-2,3,6,7-TETRAHYDRO-1H-PURIN-8-YLSULFANYL]-AC
28	3,533	0,51	2-Acetylamin-3-(3,4,5-triacetoxy-6-iodomethyltetrahydropyran-2-ylsulfanyl)propionic acid, methyl ester
29	3,545	0,14	Trimellitimide lauryl ester
30	3,565	0,34	Cholesta-9(11),20(22)-dien-23-one, 3,6-dihydroxy-, (3.beta.,5.alpha.,6.alpha.)- (CAS)
31	3,604	1,05	5-Bromo-8-(2-hydroxy-1-naphthylmethyleneamino)quinoline hydrochloride

32	3,645	0,46	1-Cyano-1-phenyl-1-(2,5-dibromo-4-nitrophenyl)ethane
33	3,692	0,74	2,5-DIMETHYL-THIOPHENE-3-SULFONIC ACID (3-HYDROXY-PHENYL)-AMIDE
34	3,73	0,54	N-(5-METHYL-3-ISOXAZOLYL)-3-(4-PHENYL-1-PIPERAZINYL)PROPANAMIDE
35	3,745	0,5	2-Methoxy-5H-indolo[2,3-b]quinoxaline
36	3,785	0,11	6-CHLOROBENZO[CD]INDOL-2(1H)-ONE
37	3,795	0,1	1-Methyl-4-amino-5-chloro-6-oxo-(1H)-pyridazine
38	3,805	0,33	Dimethyl-4-hydroxy-3-trimethylsilylphenyl phosphate
39	3,861	0,52	L-Dimyrsitoyllecithin
40	3,899	0,69	Silane, [[(3.alpha.,5.alpha.,17.beta.)-androstane-3,17-diyl]bis(oxy)]bis[trimethyl-
41	3,925	0,38	Pyrrolo[1,2-a]pyrimidine-4(6H)-one, 7,8-dihydro-3-acetyl-2-amino-
42	3,964	0,43	1-Oxaspiro[2.5]octan-4-one, 2,2,6-trimethyl-, cis- (CAS)
43	4,025	0,67	methyl n-tridecylsuccinate
44	4,074	0,59	4-(2-Naphthylthio)-2-phenyl-2-(trifluoromethyl)-1,3-oxazole-5(2H)-one
45	4,1	0,32	1,6(2H,7H)-Naphthalenedione, 3,4,8,8a-tetrahydro-8a-methyl- (CAS)
46	4,156	0,72	d-Xylitol, pentaacetate (CAS)
47	4,17	0,13	1,1'-Biphenyl, 2,2',3,3',4,5',6,6'-octachloro- (CAS)
48	4,19	0,44	(ent)-Kaur-16-ene-3.beta.,15.alpha.-diol
49	4,223	0,36	Octanedioic acid (CAS)
50	4,265	0,51	Hentetracontanoic acid, 18-oxo- (CAS)
51	4,316	0,43	2,3',4,6-Tetramethyldiphenylsulphone
52	4,355	0,43	GIBBERELLIN A19 METHYL ESTER
53	4,444	1,12	Dimethyl 2-[(E)-2'-Phenylethenyl]-bicyclo[5.5.1]trideca-1,3,5,7,9,11-hexaene-4,5-dicarboxylate
54	4,466	0,51	2(3H)-Benzofuranone, 3a,4,7,7a-tetrahydro-3a-methyl- (CAS)
55	4,54	0,83	Perylo[1,12-def]-1,3-dioxepin-5,11-dione, 6,12-dihydroxy-8,9-bis(2-hydroxypropyl)-7,10-dimethoxy-, stereoisomer (CAS)
56	4,565	0,44	T-2 Tetraol
57	4,585	0,32	Benzonitrile, 4-[[[(4-ethoxyphenyl)methylene]amino]-
58	4,606	0,36	2-METHYL-4-(5-METHYL-FURAN-2-YL)-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID 2-PHENOXY-ETHYL ESTER
59	4,635	0,41	4-BUTOXY-N-[2-(4-METHOXY-PHENYL)-1-[2-(2-METHYL-1H-INDOL-3-YL)-ETHYLCARBAMOYL]-VINYL]-BENZAMIDE
60	4,65	0,16	3-Methyl-2-(phenylselenyl)butyric acid, ethyl ester
61	4,671	0,4	Benzaldehyde, 4-hydroxy-3,5-dimethoxy-, [(4-hydroxy-3,5-dimethoxyphenyl)methylene]hydrazone
62	4,69	0,42	Pentanehydrazide, N2-(2-methylcyclohexylidene)-
63	4,715	0,6	Heroin
64	4,76	0,4	2-(DICHLOROMETHYL)-4-(4-METHYLPHENYL)-3H-1,5-BENZODIAZEPINE
65	4,8	0,41	Anodendroside E1
66	4,857	0,69	1-(Propa-1',2'-dienyl)-2,2,6,6,-tetrauteriocyclohexan-1-ol
67	4,885	0,1	7-CHLORO-1,2-HEPTADIENE
68	4,925	0,44	D-ribo-Hexitol, 2-(acetylamino)-1,5-anhydro-2,3-dideoxy-, 4,6-diacetate
69	4,96	0,2	Acetaldehyde, trichloro- (CAS)
70	4,97	0,19	(2S*)-1,2-[(R*)-1-(3,4-Dimethyl-3-pentenyl)-1-(hydroxymethyl)methylene]-5-methoxycarbonylindoline

71	5	0,27	(trans)-bis[.eta(5).-[1,2,4,5-Tetramethyl-3-phenylcyclopentadienyl]-dichlorozirconium
72	5,075	1,03	N-tert-Butyl-2-[2-(hydroxy-phenyl-methyl)-benzoimidazol-1-yl]-acetamide
73	5,156	0,55	D-PRIM-CORTISONE
74	5,177	0,35	Palladium, .eta.-4-(1,6-heptadiene)-(triisopropylphosphine)
75	5,21	0,13	Cholesta-9(11),20(22)-diene-3,23-dione, 6-hydroxy-, (5.alpha.,6.alpha.)-(CAS)
76	5,22	0,07	2-Propyn-1-amine, N,N-di-2-propynyl- (CAS)
77	5,24	0,3	Cyclopropanecarboxaldehyde, 3-[1,3-dihydroxy-3-[4-hydroxy-3-methyl-5-(2-methyl-3-oxo-1-propenyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hex-1-yl]-2
78	5,27	0,08	BENZOFURANE-2-CARBOXYLIC ACID, 3-AMINO-, METHYL ESTER
79	5,293	0,3	2H-1,4-Benzodiazepin-2-one, 7-chloro-1,3-dihydro-5-phenyl- (CAS)
80	5,336	0,76	N-TERT-BUTYL-N'-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-6-(2,2,2-TRIFLUORO-ETHOXY)-[1,3,5]TRIAZINE-2,4-DIAMINE
81	5,395	0,15	bis(5,5,5-trifluoro-4-oxopentan-2-N-propylene)aminocopper(II)
82	5,42	0,14	N-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-3-(4-PHENYL-PIPERAZIN-1-YL)-PROPIONAMIDE
83	5,44	0,05	Pregnane-3,20-dione, 16-methylene-11,17,21-tris[(trifluoroacetyl)oxy]-, (5.alpha.,11.alpha.)- (CAS)
84	5,481	0,29	Chroman-5(6H)-one, 7,8-dihydro-3,4-dehydro-3-ethoxy-7,7-dimethyl-2-dimethylamino-
85	5,508	0,15	Cycluron
86	5,55	0,41	1-Phenyl-3,6-diazahomoadamantane
87	5,565	0,18	2-AMINO-1-(4-BROMO-2-FLUORO-PHENYL)-5-OXO-4-THIOPHEN-2-YL-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBONITRILE
88	5,616	0,38	1,5,9-Trithiacyclododecane (CAS)
89	5,663	0,48	2-Butene-1,4-diamine, N,N'-diethyl- (CAS)
90	5,695	0,49	8-Azabicyclo[3.2.1]octan-3-one, 6,7-dihydroxy-8-methyl-, (exo,exo)-(CAS)
91	5,745	0,34	Benzensulfonamide, 2,4-dichloro-N-(4-chlorophenyl)methylsulfinylidene-
92	5,8	0,32	Isomorellic acid
93	5,828	0,22	12-Hydroxyisointermedeol
94	5,853	0,27	2-[1,4-BIS-(4-METHOXY-PHENYL)-1H-IMIDAZOL-2-YLSULFANYL]-N-THIAZOL-2-YL-ACETAMIDE
95	5,865	0,14	(4-18O)PENTAACETYLGULOSE
96	5,874	0,27	7,12-Dichloro-5,14-dioxapentacyclo[7.5.0.0(2,6).0(3,13).0(4,10)]tetradeca-7,11-diene
97	5,901	0,3	4-[2-(1R*,2S*)-(2-Hydroxycyclohexylmethyl)allyl]tetrahydro-2H-pyran-4-ol
98	5,93	0,21	Methyl 2-methoxy-6,7-bis(methylthio)-pentadecanoate
99	5,959	0,43	Methyl 4-(5-benzoyl-2-thienyl)butyrate
100	6,006	0,41	Thiocyanic acid, 2.alpha.-methyl-5.alpha.-cholestan-3.beta.-yl ester (CAS)
101	6,041	0,41	Nickel(II) bis(N,N-diheptyldithiocarbamate)
102	6,091	0,62	1-n-Hexadecyloxy-1-methyl-1-silacyclobutane
103	6,125	0,38	37(2-(3-(tert-butyltrimethylsiloxy)-1-octenyl)-4-(tert-butyltrimethylsiloxy)-6-methoxy-5,6-dihydropyran-3-yl)-5(Z)-pentenoic acid
104	6,169	0,38	Propanoic acid, 2-bromo-2-methyl-, ethyl ester

105	6,196	0,43	Pent-4-enamine, 2-allyl-2-(2,3-dimethoxyphenyl)-
106	6,235	0,71	1,1,1-Trifluoro-3-iodobutane
107	6,275	0,12	4-(4-CHLORO-BENZENESULFONYL)-3-METHYL-5-METHYLSULFANYL-THIOPHENE-2-CARBOXYLIC ACID
108	6,286	0,33	5,6-Dinitrobenzo[1,3]-dioxole-2',1-cyclopentane
109	6,31	0,12	1-(3-CHLORO-PHENYL)-4,6-DIMETHYL-2-OXO-1,2-DIHYDRO-PYRIDINE-3-CARBOXYLIC ACID AMIDE
110	6,32	0,11	3-Methylpyrazolobis(BBN)thioxide
111	6,341	0,38	Bis(dimethylglyoximate)palladium
112	6,396	0,72	1,5-CYCLOOCTADIENE, 1,2,3,3,8,8-HEXADEUTERO-
113	6,415	0,09	1,4-Dimethoxy-6-(isopropoxymethyl)naphthalene
114	6,436	0,49	Butanedioic acid, 2-(1-methoxy-1-methylethoxy)-3-methyl-, diethyl ester, [s-(R@,s@)]-
115	6,48	0,44	DIOXYLUCIFERIN
116	6,529	0,22	METHYL [1,4,5,6,7,7-HEXACHLORO-2-(METHOXYCARBONYL)BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-3-YL]ACETATE
117	6,56	0,63	Ethyl 2-[(ethoxycarbonyl)amino]-3,3,3-trifluoro-2-(2-pyrimidinylamino)propionate
118	6,634	0,47	HEXANE-3,3-D2, 1-BROMO-
119	6,665	0,43	Hexamethylborazine
120	6,696	0,08	4-(1-Methoxyiminoethyl)-2,2,5,5-tetramethyl-3-imidazoline-3-oxide-1-oxile
121	6,704	0,18	(4-18O)PENTAACETYLGLUCOSE
122	6,755	0,41	ISOFLAVONE DAIDZEIN
123	6,798	0,19	.alpha.-D-Glucofuranose, 1,2:5,6-bis-O-(1-methylethylidene)- (CAS)
124	6,82	0,41	Hexanoic acid, 5-methylene-6-(4-methoxycarbonyl-1-cyclohexenyl)-, methyl ester
125	6,88	0,2	2-NITROBENZALDEHYDE [4,6-DI(4-MORPHOLINYL)-1,3,5-TRIAZIN-2-YL]HYDRAZONE
126	6,948	0,44	4,4,6,6-Tetramethyltetrahydro-1,3-oxazine-2-thione
127	6,988	0,14	1-(4H-[1,2,4]Triazol-3-yl)-3-(2,4,6-trichloro-pyridine-3-carbonyl)-urea
128	7,015	0,11	1,2-Nonadecanediol (CAS)
129	7,025	0,15	2'H-Cholest-2-eno[3,2-c]pyrazole, (5.alpha.)- (CAS)
130	7,05	0,07	N-Cyclohex-2-en-1-ylidene cyclohexylamine, N-oxide
131	7,1	0,44	3-Pyridinol, 2-(methylthio)- (CAS)
132	7,12	0,23	3-Diethylsulfamoyl-N-O-tolyl-benzamide
133	7,16	0,27	9-BORABICYCLO[3.3.1]NONANE, B-ETHYL-, TRIMETHYLPHOSPHINE
134	7,184	0,56	Pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione, 6-(5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thiomethyl-
135	7,259	0,2	Heptacosanoic acid, methyl ester (CAS)
136	7,287	0,27	1,3-Diazaadamantane, 2-(4-methoxyphenyl)-6,6-dimethyl-5,7-dinitro-
137	7,325	0,14	Preg-4-en-3-one, 12,17-dihydroxy-20-nitrilo-
138	7,349	0,2	Pyrrolidine-3-carboxamide, N-(4,5,6,7-tetrahydro-3-cyano-2-benzothienyl)-1-isopropyl-5-oxo-
139	7,375	0,08	1-PHENYLTHIABENZENE-POLYMER
140	7,396	0,08	2-(3-METHYLPHENYL)-6-NITRO-3,5-DI(2-THIENYL)-2,3,4,5-TETRAHYDRO-1,2,4-TRIAZINE
141	7,419	0,16	2-hydroxy-3,7-dimethyloctan-4-one
142	7,43	0,18	[1S,4aR,8aR] - 1,2,3,4,4a,7,8,8a - octahydro - 1 - methoxymethyl - 1,4a,6 - trimethyl - naphthalene (so Anderson)

143	7,49	0,09	2,6-Dimethyl-8-oxoocta-2,6-dienoic acid, methyl ester
144	7,52	0,27	Nonanoic acid, 9-oxo-, ethyl ester (CAS)
145	7,545	0,24	Benzenamine, N-methyl-2,4-dinitro- (CAS)
146	7,583	0,31	Acetonitrile, (3-chloro-5,5-dimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)-, (E)- (CAS)
147	7,68	1,15	Cholesta-5,7-dien-3-ol, acetate, (3.beta.)- (CAS)
148	7,755	0,6	Pregnan-3-one, 17-hydroxy-, (5.alpha.,17.alpha.)- (CAS)
149	7,805	0,27	2-(4-Methoxyphenyl)-4,6-dimethyl[1,3]oxathiane
150	7,854	0,55	Ethanone, 2-(5-amino-1,3,4-thiadiazol-2-yl)thio-1-(3-nitrophenyl)-
151	7,885	0,45	Acetamide, N-[2-(2-oxopropyl)phenyl]- (CAS)
152	7,956	0,42	2-AMINO-4-OXO-5,6-DIHYDRO-4H-[1,3]THIAZINE-6-CARBOXYLIC ACID (2,4-DICHLORO-PHENYL)-AMIDE
153	7,985	0,07	5-IMINO-6-[2-[2-(2-METHOXY-PHENOXY)-ETHOXY]-BENZYLIDENE]-2-PROPYL-5,6-DIHYDRO-[1,3,4]THIADIAZOLO[3,2-A]PYRIMIDIN-7-ONE
154	7,995	0,25	Hydrazinecarboxylic acid, cyclopentylidene-, ethyl ester (CAS)
155	8,04	0,18	Columbin
156	8,065	0,08	5-Ethyl-2-ureidothiophene-3-carboxylic acid, ethyl ester
157	8,104	0,19	1,3,2-Dioxaphosphorinane, 2-butoxy-5,5-dimethyl-
158	8,153	0,53	GLUTAMATE, TBS 2X
159	8,226	0,47	2-(2',2',2'-D3-ETHYL)PYRIDINE
160	8,24	0,07	Cyclooctanol, 2-mercapto-
161	8,262	0,22	Methanone, bis[[4-methoxy-2-[(trimethylsilyl)oxy]phenyl]- (CAS)
162	8,305	0,56	DI-2-BENZOTHAZOLE DISULFANE
163	8,34	0,39	Hexadecanoic acid (CAS)
164	8,381	0,12	Germacyclopentane, 1-propyl- (CAS)
165	8,39	0,27	2H-1-BENZOPYRAN-3-CARBOXAMIDE, 6,8-DIBROMO-N-(1H-INDAZOL-6-YL)-2-OXO-
166	8,435	0,26	N-(4'-CHLOROPHENYL)-2-HYDROXYIMINO ACETAMIDE
167	8,475	0,2	4,15-Diazacycloheptadecane-3,16-dione, 4,15-dihexyl-1-oxo
168	8,506	0,27	1,3-Propanediol, 2,2-bis(bromomethyl)- (CAS)
169	8,527	0,44	1,2,4-Triazol-5-amine, 3-[4-(3-methylthioureido)butyl]-
170	8,559	0,5	5-(4-BROMO-PHENYL)-2,3-DIMETHOXY-5H-6-OXA-BENZO[A]FLUOREN-11-ONE
171	8,606	0,34	2-AMINO-4-(5-TERT-BUTYL-2-THIENYL)-1-(2,6-DIFLUOROPHENYL)-7,7-DIMETHYL-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-3-QUINOLINECARBONITRILE
172	8,62	0,1	Cholestan-6.beta.-ol (CAS)
173	8,63	0,1	14-methoxycarbonyl-8,12-bis[2-(methoxycarbonyl)ethyl]-3,7,13-trimethyl-2-vinyltripyrin-1-one
174	8,656	0,38	ethyl 1-methyl-2-oxocyclohexanecarboxylic acid ester
175	8,714	0,69	Isovindolinol
176	8,75	0,49	ACETAMIDE, N-(2-CYANO-4,5-DIMETHOXYPHENYL)-2-[METHYL(1-METHYL-4-PIPERIDINYL)AMINO]-
177	8,775	0,43	Cyclopentanecarboxylic acid, 2-oxo-, ethyl ester (CAS)
178	8,813	0,38	1(2H)-Naphthalenone, octahydro-8a.beta.-methyl-2-(p-methylbenzylidene)- (CAS)
179	8,825	0,34	2-(1-HYDROXYMETHYL VINYL)-2-HYDROXYMETHYL-3A,4-DIMETHYLPERHYDROINDENE
180	8,861	0,1	Pseudouridine
181	8,885	0,8	9,10-Secochola-5,7,10(19)-triene-3,24-diol, (3.beta.,5Z,7E)- (CAS)
182	8,945	0,21	4-Amino-6-morpholino-5-nitropyrimidine

183	8,97	0,55	Tetrahydro-thiopyran-3-carboxaldehyde
184	9,031	0,31	1,6-dimethoxy-2,4-hexadiene
185	9,05	0,1	DODECYLDIGLYCOL
186	9,116	0,71	Naphtho[2,1-d][1,3]dioxepin, dodecahydro-5a,8,8,11a-tetramethyl-, [5aR-(5a.alpha.,7a.beta.,11a.alpha.,11b.beta.)]- (CAS)
187	9,145	0,29	(-)-Isopulegol
188	9,17	0,37	1,3,5,7-TETRANITRO-1,3,5,7-TETRAZACYCLOOCTANE-13C
189	9,195	0,3	Iron,(5-methyl-2-furanoyl)dicarbonyl-.pi.-cyclopentadienyl
190	9,22	0,11	Tetraneurin A
191	9,241	0,42	8-Azabicyclo[4.3.1]decan-10-ol, 8-methyl-10-phenyl-, stereoisomer (CAS)
192	9,28	0,47	Ethyl (E)-2-decen-4-ynoate
193	9,32	0,43	Desoxyuvidin-B
194	9,365	0,23	8B,13:8A,14-DIEPOXY-14,15-BISNORLABDANE
195	9,398	0,56	Cyclopropa[7,8]cholestan-3-ol, 3',7'-dihydro-, (3.beta.,5.alpha.,7.beta.,8.alpha.)- (CAS)
196	9,459	0,23	Phosphorothioic acid, O,O-diethyl O-(4-nitrophenyl) ester (CAS)
197	9,48	0,11	Propanoic acid, 2,2-dimethyl-, 2,3,3a,9a-tetrahydro-6-oxo-2-[[trifluoroacetyl]oxy]methyl]-6H-furo[2',3':4,5]oxazolo[3,2-a]pyri
198	9,501	0,14	Uridine, 2',3'-O-isopropylidene-, 4,5'-diacetate (CAS)
199	9,546	0,19	2-N-BUTOXY-3,3,5,5-TETRACHLORO-2-METHYL-6-TRICHLOROMETHYL-4-PYRIDONE
200	9,56	0,06	Chol-7-ene, (5.beta.)- (CAS)
201	9,6	0,38	Methyl (2E,4Z)-2,4,5-trideuteriohepta-2,4-dienoate
202	9,648	0,33	8-Nonynoic acid (CAS)
203	9,681	0,15	11-Hydroxy-8-oxo-13-tridecanolide
204	9,716	0,44	4-DIMETHYLHYDRAZONOMETHYL-2,2,5,5-TETRAMETHYL-3-IMIDAZOLINE-3-OXIDE-1-OXYL
205	9,775	0,39	2-(4-AMINO-6-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-5,6,7,8-TETRAHYDRO-THIENO[2,3-B]QUINOLIN-3-YLAMINE
206	9,836	0,46	Decanoic acid (CAS)
207	9,879	0,34	Benzenesulfonamide, 4-fluoro-N-[3-(4-methyl-4H-1,24-triazol-3-yl)phenyl]-
208	9,923	0,8	1,2,4-Thiadiazole, 5-amino-3-propyl- (CAS)
209	10,01	0,49	3-Bromo-2-bromomethylpropionic acid, ethyl ester
210	10,07	0,49	Pregnane-3,20-dione, 21-[(trimethylsilyl)oxy]-, bis(O-methyloxime), (5.alpha.)- (CAS)
211	10,11	0,51	DESOXY-MINOXIDYL
212	10,155	0,48	2-CHLORO-N-(3-CHLORO-4-MORPHOLIN-4-YL-PHENYL)-4,5-DIFLUORO-BENZAMIDE
213	10,214	0,37	2,1,3-BENZOXADIAZOL-5-YLMETHYL 4-METHYL-4H-1,2,4-TRIAZOL-3-YL SULFIDE
214	10,24	0,22	2-Pentenal, 2-methyl-, diethylhydrazone (CAS)
215	10,292	0,4	Methyl 4,4-difluororetinoate (all-trans)
216	10,325	0,2	1-[2-(4-CHLORO-PHENYL)-ETHYL]-5-OXO-PYRROLIDINE-3-CARBOXYLIC ACID 2-(4-CHLORO-PHENYL)-2-OXO-ETHYL ESTER
217	10,379	0,2	2-[5-(2-Chloro-phenyl)-tetrazol-2-yl]-N-(2,5-dimethyl-phenyl)-acetamide
218	10,39	0,07	Furazan-3-amine, 4-[5-(2,2,3,3-tetramethylcyclopropyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-
219	10,461	0,43	3-Hepten-2-one, O-methyloxime (CAS)

220	10,489	0,37	2,2-DIMETHYL-2,5,6,7-TETRAHYDRO-4H-BENZIMIDAZOL-4-ONE OXIME 1-OXIDE
221	10,555	0,29	Silane, [[(16.alpha.,17.beta.)-estra-1,3,5(10)-triene-3,16,17-triyl]tris(oxy)]tris(trimethyl- (CAS)
222	10,575	0,24	5-Bromo-4-[1,7,7-trimethyl-2-(2,2-dimethylpropyloxy)bicyclo[2.2.1]hept-2-yl]oxy-1-trimethylsilylpent-1-yne
223	10,62	0,31	Pregnan-20-one, 3,11-dihydroxy-17,21-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, O-methyloxime, (3.alpha.,5.beta.,11.beta.)- (CAS)
224	10,644	0,26	1H-PYRROLE-2-CARBOXYLIC ACID, 1-ACETYL-4-ACETYLAMINO-3,5-DIMETHYL-, ETHYL ESTER
225	10,655	0,09	Tungsten, dicarbonyl-(.eta.-4-pinocarvone)[1,2-bis(dimethylphosphino)ethane]
226	10,665	0,16	Carbamic acid, (3-chlorophenyl)-, 1-methylethyl ester (CAS)
227	10,77	0,7	(Z,Z)-4-Ethyl-3-methyl-5-(5-(furyl-2-methylen)-3,4-dimethyl-5H-pyrrolyl-2-methylene)-3-pyrrolin-2-on
228	10,815	0,03	NAPHTHALENE, 1,8-BIS(DIMETHYLAMINO)-
229	10,85	0,37	N-ETHYL-2,5-DIMETHOXY-BENZENESULFONAMIDE
230	10,885	0,06	5,9-Methanobenzocyclooctene, 3-chloro-5,6,9,10-tetrahydro-5,7,8,9-tetramethyl-
231	10,91	0,19	Succinimide, 2-[3-(benzyloxy)propyl]-2-ethyl-N-(2-indol-3-ylethyl)- (CAS)
232	10,94	0,24	PHTHALYGLYCYLAMINOMETHYL(ETHOXY)PHOSPHINYLGLYCINE ETHYL ESTER
233	10,985	0,17	2,6-DIBROMO-5-HYDROXY-4-(3-METHYLPHENYL)-3-THIOMORPHOLINONE
234	11,001	0,19	(Z,Z)-4-Ethyl-3-methyl-5-(5-(4-cyanophenyl-2-methylen)-3,4-dimethyl-5H-pyrrolyl-2-methylene)-3-pyrrolin-2-on
235	11,04	0,19	Butanoic acid, 2-(2,1,3-benzothiadiazol-4-ylsulfonylamino)-3-methyl-
236	11,056	0,03	DIPHENYLACETYLGLYCINE
237	11,087	0,22	(+)-nepetalactone
238	11,125	0,24	5H-3,5a-Epoxy-naphth[2,1-c]oxepin, dodecahydro-3,8,8,11a-tetramethyl-, [3R-(3.alpha.,5a.alpha.,7a.beta.,11a.beta.,11b.alpha.)]-
239	11,163	0,21	Indole-2-acetic acid, .alpha.-(1-acetyl-3-ethylidene-4-piperidyl)-.alpha.-(hydroxymethyl)-3-(methoxymethyl)-, methyl ester (CAS)
240	11,19	0,28	2-(3,5-DICHLORO-4-HYDROXYPHENYL)-3,3,3-TRIFLUORO-2-HYDROXYPROPANOIC ACID
241	11,271	0,3	Naphthalenecarboxylic acid, 1-[2-(3-furanyl)ethyl]-1,2,3,4,4a,7,8,8a-octahydro-4a-(methoxymethyl)-1,2-dimethyl-, methyl ester (
242	11,28	0,06	4-(1-Methylethyl)-2,3,4-triphenyl-2-cyclobuten-1-one
243	11,305	0,19	Cholesta-5,7-dien-3-ol, acetate, (3.beta.)- (CAS)
244	11,326	0,08	2-CYANOACRYLATE-5-PYRROLEMETHANOL
245	11,335	0,06	7-BROMO-6-ETHYL-1,3-DIMETHYL-5-PHENYL-1,6-DIHYDRO-PYRROLO[3,4-D]PYRIMIDINE-2,4-DIONE
246	11,345	0,06	1(2H)-Naphthalenone, octahydro-5-hydroxy-4a-methyl- (CAS)
247	11,365	0,15	Annotine, 2,3-dihydro- (CAS)
248	11,375	0,09	2-[2-(4-BROMO-PHENYL)-2-OXO-ETHYLSULFANYL]-BENZOIC ACID
249	11,385	0,08	4-[(4-Ethoxybenzylidene)-amino]-N-(5-methylisoxazol-3-yl)-benzenesulfamide
250	11,394	0,17	5-cyano-1-desoxinojirimycin
251	11,43	0,15	3-(3,4-DIMETHOXY-PHENYL)-11-PYRIDIN-3-YL-2,3,4,5,10,11-HEXAHYDRO-DIBENZO[B,E][1,4]DIAZEPIN-1-ONE
252	11,456	0,09	Hexa-t-butylselenatrilethane

253	11,475	0,22	1,1,3-TRIBROMO-2-METHYL-1-NITROBUTANE
254	11,495	0,07	5-Ethoxy-cyclooctene
255	11,505	0,15	3-Methyl-2-methylimino-4-oxo-[1,3]thiazinane-6-carboxylic acid phenylamide
256	11,53	0,05	4a.alpha.,4b.beta.-Gibbane-1.alpha.,10.beta.-dicarboxylic acid, 2.beta.,4a,8-trihydroxy-1,8-dimethyl-, 1,4a-lactone, methyl est
257	11,54	0,03	.ALPHA.-D-MANNOFURANOSE, 2,3,5,6-TETRA-O-ACETYL-PROPYL-
258	11,585	0,1	1-isopropyl-2-phenyl-1,4,5,6-tetrahydropyridine
259	11,625	0,27	Ethyl 4,7,12,12-tetramethyl-(1at,2ac,3ac,7ac,8ac,9at)-1a,2,2a,3,3a,4,7,7a,8,8a,9,9a-dodecahydro-2r,9c
260	11,66	0,02	Furazan-3-ol, 4-amino-
261	11,706	0,24	1,4-anhydro-1-deoxo-2,3-dideoxy-1-imino-5,6:8,9-di-o-isopropylidene-.alpha.-d-manno-4-nonosulo-4,7-furanose N-oxide
262	11,731	0,18	Quinuclidine-2-carboxylic acid, 2,3-dehydro-3-amino-, ethyl ester
263	11,756	0,16	3-(1-Ethyl-1-methyl-4-pyrrolidin-1-yl-but-2-ynyloxy)-propionitrile
264	11,786	0,18	N-(2-METHOXY-PHENYL)-3-[4-[2-(2-METHOXY-PHENYL CARBAMOYL)-ETHYL]-PIPERAZIN-1-YL]-PROPIONAMIDE
265	11,845	0,39	2-(7-ETHYL-4-OXO-3-PHENYL-3,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-BENZO[4,5]THIENO[2,3-D]PYRIMIDIN-2-YLSULFANYL)-N-(3-NITRO-PHENYL)-ACETAMIDE
266	11,876	0,06	5-(Propyl)-2-[4-(4-propylcyclohexyl)phenyl]pyrimidine
267	11,9	0,14	Cyclohexanone, 2,3,3-trimethyl-2-(3-methylbutyl)- (CAS)
268	11,932	0,27	1-Dimethyl(3-chloropropyl)silyloxypentadecane
269	11,95	0,14	Octaborane
270	11,965	0,02	4-(4-FLUORO-3-METHYLPHENYL)-N-(2-NAPHTHYL)-1,3-THIAZOL-2-AMINE
271	11,988	0,13	ACETAMIDE, N-METHYL-2-(5-METHYL-3-TRIFLUOROMETHYLPYRAZOL-1-YL)-N-(4-TRIFLUOROMETHOXYPHENYL)-
272	12,025	0,15	4-Piperidinone, 2,2,6,6-tetramethyl- (CAS)
273	12,092	0,54	Benzenesulfonamide, 4-acetyl-N-[(cyclohexylamino)carbonyl]-
274	12,143	0,49	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.beta.,3.alpha.,4.beta.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
275	12,155	0,1	N-(anti(10,11)-Tricyclo[4.3.1.1(2,5)]undec-10endo-yl)pyrrolidine
276	12,176	0,32	3,7-Diisopropyl-5-methyl-4H-1,2-diazepine
277	12,2	0,2	d-Ribitol, 1,4-anhydro-1-c-(2,6-diamino-3-pyridinyl)-2,3-O-(1-methylethylidene)-, (1s)-
278	12,215	0,23	Benzothiophene-3-carboxylic acid, 4,5,6,7-tetrahydro-2-(2,5-dioxo-3-pyrrolin-1-yl)-, ethyl ester
279	12,239	0,08	2-[5-(2-Isobutoxyphenyl)-4H-1,2,4-triazol-3-ylthio]acetic acid
280	12,299	0,61	7-Methyl-6-nitro-thiazolo[3,2-a]pyrimidin-5-one
281	12,321	0,2	Acetic acid, trifluoro-, 2-[(acetyloxy)methyl]-2,3,3a,9a-tetrahydro-6-oxo-6H-furo[2',3':4,5]oxazolo[3,2-a]pyrimidin-3-yl ester,
282	12,35	0,25	AUREONONE
283	12,38	0,24	2,5-Methano-2H-thiopyrano[3,2-b]furan, hexahydro-
284	12,4	0,15	Prost-13-en-1-oic acid, 9,11,15-trihydroxy-6-oxo-, methyl ester, (9.alpha.,11.alpha.,13E,15S)-
285	12,41	0,08	Oxiranepentanoic acid, 3-undecyl-, methyl ester, cis- (CAS)
286	12,435	0,21	methyl 15-oxo-eicosanoate

287	12,471	0,36	2-Hexenedioic acid, 2-methoxy-, dimethyl ester (CAS)
288	12,49	0,31	Stigmasta-7,22-dien-3-ol, acetate, (3.beta.,5.alpha.,22E)- (CAS)
289	12,515	0,31	2-HYDROXY-3-(PALMITOYLOXY)PROPYL (9E)-9-OCTADECENOATE #
290	12,555	0,21	Codein-propionyl
291	12,586	0,29	3-[2-(N-methylaminomethyl)phenylthio]phenol
292	12,63	0,73	6,6-Ethylenedithio-9-decanolide
293	12,64	0,18	4,5-Dibromocampholide
294	12,65	0,68	(-)-Dimethyl succinate
295	12,699	1,01	1H-Indolizino[8,7-b]indole, 2-[2-[(benzyloxy)methyl]butyl]-2,3,5,6,11,11b-hexahydro- (CAS)
296	12,77	0,48	Methyl 10-acetoxyoctadecanoate
297	12,78	0,27	2-(4-AMINO-6-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-4,6-DIMETHYL-THIENO[2,3-B]PYRIDIN-3-YLAMINE
298	12,818	0,22	Silane, [(3.beta.,6.beta.)-cholest-4-ene-3,6-diyl]bis(oxy)]bis[trimethyl- (CAS)
299	12,854	0,44	Silanamine, 1,1,1-trimethyl-N-(pentafluorophenyl)- (CAS)
300	12,914	0,18	2-MORPHOLINO-4-(3-NITROPHENYLAMINO)-6-(3,4-
301	12,945	0,08	Bis-trimethylsilyl derivative of biphytanol
302	12,965	0,03	Ethyl 5,6,7,8-tetrachloro-3a,9a-dihydro-2-methyl-3a,9a-butanethieno[2,3-b][1,4]benzodioxane-3-carboxylate
303	12,99	0,13	OSMIUM, TRICARBONYL[(1,2,3,4-.ETA.)-1,3-CYCLOHEXADIENE]-
304	13,01	0,29	7-Hydroxy-6-keto-drimanol
305	13,05	0,32	Pent-2-en-1-one, 4,4,5,5-tetrafluoro-3-phenyl-1-(2-thienyl)-
306	13,075	0,14	N-Butyl-6,12-imino-6H,12H-dibenzo[b,f][1,5]dithiocin
307	13,103	0,18	[Bis(.eta.5-tetramethylcyclopentadienyl(dimethylsilyl)(but-3-en-1-yl))chlorotitanium(IV)]
308	13,135	0,17	LSD
309	13,156	0,19	1,4-Dioxaspiro[4.5]decane-7-butanoic acid, 6-methyl-, 2-(methylsulfonyloxy)ethyl ester
310	13,174	0,02	3-Benzoyl-1,4-bis(4-chlorophenyl)-5-methyl-2-thioxo-6-phenyl-1,2-dihydropyridine [3-benzoyl-5-methyl-1,4-bis(4-chlorophenyl)-6-

3. *B. amyloliquefaciens* BB.R3

Peak	R. Time	Area%	Name
1	2,544	0,58	4,4-DI-TRIDEUTEROMETHYL-2-ALLYLCYCLOHEXANONE
2	2,58	0,08	1,1,2,2-Tetradeuteriospiropentane
3	2,6	0,22	Buxozine-C
4	2,64	0,64	4-[5-(Diethylaminosulfonyl)-2-(2-furyl)-1-benzimidazolyl]butyric acid
5	2,691	0,45	9-Oxabicyclo[4.3.0]non-6-en-8-one, 9-[2-methylenebicyclo[3.3.0]octane-3,6-dione-1-yl]-
6	2,73	0,75	Guaiol
7	2,811	0,49	2-(3-METHYLSULFANYL-6,7-DIHYDRO-BENZO[C]THIOPHENE-1-CARBONYL)-3-(3-TRIFLUOROMETHYL-PHENYLAMINO)-ACRYLONITRILE
8	2,842	0,27	1-[2-Bromo-1-(1-(p-nitrophenyl)ethylideneimino)ethylamino]-2-mercapto-5-[5-methyl-1-(4-methylphenyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-1,3,4-
9	2,897	0,5	1'H-Cholest-2-eno[3,2-b]indol-6-one, 1'-(phenylmethyl)-, oxime, (5.alpha.)- (CAS)
10	2,92	0,27	Benzene, trinitro-ethyl-
11	2,974	0,33	2-(2-ACETOXY-1-(3',4',5'-TRIACETOXY-2-ACETOXYCARBONYLPYRAN-6-YLOXY)PHEN-4-YL-5,7-DIHYDROXY-3,6-DIMETHYLBENZO[B]PYRAN OR SPINATI
12	3,025	0,38	2-METHYL-5-ETHYL-2-(5'-ETHYL-2'-PICOLYL)-3-(1"-HYDROXY-3"-METHYLBUTYL)-6-PHENYL-4,5-DIDEHYDROPIPERIDINE
13	3,071	0,49	Nickel, [.mu.-(1,2-.eta.:3,4-.eta.)-1,3-butadiene]]bis[(1,2,3,4,5-.eta.)-1,2,3,4,5-pentamethyl-2,4-cyclopentadien-1-yl]di-, (n
14	3,097	0,25	N-(1-ETHYL-1-METHYL-2-PROPYNYL)-2-{5-[4-(METHYLSULFONYL)PHENYL]-2H-TETRAAZOL-2-YL}ACETAMIDE
15	3,13	0,14	1,4,10,13-Tetraoxa-7,16-diazacyclooctadecane, 7,16-bis(1-oxodecyl)-
16	3,17	0,15	Benzene, 1-methoxy-4-(trifluoroethenyl)- (CAS)
17	3,195	0,2	5-[(CHLOROACETYL)AMINO]-2-(4-CHLOROPHENOXY)BENZOIC ACID
18	3,21	0,09	TETRADECAMETHYLCYCLOHEPTASILOXANE
19	3,22	0,09	Thorium, (.eta.4-1,3-butadiene)bis[(1,2,3,4,5-.eta.)-1,2,3,4,5-pentamethyl-2,4-cyclopentadien-1-yl]-
20	3,23	0,07	TRIS(2-METHYL-1,3-BUTADIENE)TUNGSTEN
21	3,255	0,19	Cyclopropanedecanoic acid, 2-hexyl-.alpha.-hydroxy-, methyl ester (CAS)
22	3,336	0,27	Ethyl ester of 6,7-(isopropylidenedioxy)-4-(diethoxymethyl)-hept-4-eno
23	3,405	0,4	(1R,2S,3S,4R)-1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2,3-di(hydroxymethyl)-4-(3,4,5-trimethoxyphenyl)butan-1,4-diol
24	3,46	0,16	RUTHENIUM, (.ETA.5-2,4-CYCLOPENTADIEN-1-YL)(2-METHYL-2-PROPENYL)BIS(TRIMETHYLPHOSPHINE)-
25	3,505	0,16	7-(2,4-DIMETHOXY-PHENYL)-10,10-DIMETHYL-7,10,11,12-TETRAHYDRO-9H-BENZO[B][1,7]PHENANTHROLIN-8-ONE
26	3,558	0,59	Benzimidazol-5-amine, 1,2-dimethyl-N-(2-methoxybenzyl)-
27	3,61	0,24	dimethyl 3-methyl-4-(1-propenyl)-1-cyclohexene-1,4-dicarboxylate
28	3,64	0,08	2,4,6-Tris(4-chloromethylphenyl)-1,3,5-triazine
29	3,67	0,14	2-BENZYL-9-NITRO-4,5-DIHYDRO-(6H)-IMIDAZO[4,5,1-JK]-1,4-BENZODIAZEPINE
30	3,706	0,52	E-4,4-dimethyl-2-normonyl-4,5-dihydrooxazole
31	3,746	0,18	4-(5-BROMO-2-HYDROXY-PHENYL)-3,3-DIMETHYL-1-P-TOLYL-AZETIDIN-2-ONE

32	3,754	0,11	Stannane, tetracyclopentyl- (CAS)
33	3,8	0,46	1,4-Methanoanthracene,1,4-dihydro-9,10-dimethoxy-
34	3,85	0,44	Benzene, pentachloromethoxy- (CAS)
35	3,874	0,17	5,10-Disila-2,7,11,12-tetraboratricyclo[6.2.1.1(6,9)]dodecane, 1,2,6,7,11,12-hexaethyl-3,5,5,8,10,10-hexamethyl-
36	3,966	0,9	(1-Phenyl-3,4-dihydronaphthalene-2-yl)methyl acetate
37	3,985	0,11	2-[2'(2"-methylallyloxy)anilino]-2-phenylacetic acid
38	4,01	0,25	2-METHYL-4-(5-METHYL-FURAN-2-YL)-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID PHENETHYL ESTER
39	4,021	0,12	1,2-Ethanediamine, N,N'-didodecanoyl-
40	4,071	0,72	Methyl 9,10-epithio-1.alpha.,4.alpha.-dimethoxy-(hexahydro)anthracene-9-carboxylate
41	4,101	0,46	Acetamide, 2,2',2",2'''-(1,2-ethanediyl dinitrilo)tetrakis[n-heptyl-N-methyl-
42	4,125	0,56	Pregn-4-ene-3,20-dione, 6,16-dimethyl- (CAS)
43	4,15	0,42	2-(1-PIPERIDINYLCARBOTHIOYL)HYDRAZINECARBOTHIOAMIDE
44	4,181	0,31	Indole-3-carboxylic acid, 6-bromo-1-cyclohexyl-5-hydroxy-2-methyl-, ethyl ester
45	4,223	0,4	11-(6-CHLORO-1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-3-(3,4,5-TRIMETHOXYPHENYL)-2,3,4,5,10,11-HEXAHYDRO-1H-DIBENZO[B,E][1,4]DIAZEPIN-1-ONE HYDROC
46	4,241	0,32	4-(4-AMINO-6-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YLMETHOXY)-BENZOIC ACID METHYL ESTER
47	4,271	0,25	1-(Phenylthio)cyclopropyl-1-cyclohexylmethanol
48	4,305	0,48	Dilaudid
49	4,332	0,27	RHODOAPHIN-BE
50	4,36	0,37	PYRIDINE, 2,3,5,6-TETRACHLORO-4-(2-CHLORO-1-PENTYLTHIO)-
51	4,389	0,81	Benzene, 1,2-dibromo-4-(chlorodifluoromethoxy)-
52	4,445	0,47	OSTOPANIC ACID
53	4,47	0,2	3,3'-Di(1,2,4-oxadiazole), 5,5'-di(trichloromethyl)-
54	4,48	0,24	Thymidine, 5,6-dihydro-3,5-dimethyl-3',5'-di-O-methyl- (CAS)
55	4,515	0,31	Platinum, (.eta.-2,.eta.-2-hepta-1,6-diene)(triisopropylphosphine)
56	4,525	0,27	tetramethylene thieno[2,3-d]-tetrahydropyrido[1,2-a]-pyrimidin-4-one
57	4,565	0,43	3-(2,3-DIHYDRO-1,4-BENZODIOXIN-2-YL)-2H-1,2,4-BENZOTHIADIAZINE 1,1-DIOXIDE
58	4,585	0,33	Benzamide, N-(2'-benzoylphenyl)-2-bromo-
59	4,615	0,23	Uridine (CAS)
60	4,672	0,42	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,4.alpha.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
61	4,679	0,15	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,4.alpha.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
62	4,69	0,14	1-(tert-Butoxycarbonyl)-2,3'-(2-nitrotrimethylene)diindole
63	4,721	0,53	2',4',6'-tris(trimethylsilyloxy)chalcone
64	4,759	0,41	Pregnan-20-one, 3,17,21-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, (3.alpha.,5.beta.)- (CAS)
65	4,79	0,29	Cholestan-6-one, 3-chloro-, (3.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
66	4,826	0,57	4-[1-Butyramido-2,2,2-trifluoro-1-(trifluoromethyl)ethylamino]-N-(2-pyrimidinyl)benzenesulfonamide
67	4,92	0,87	2-p-Nitroanilinonaphtho-1,2-quinone
68	4,959	0,27	Hymenoxin

69	5,03	0,8	1-(4-BROMO-PHENYL)-2,6,6-TRIMETHYL-3-(2,2,2-TRICHLORO-ETHYL)-1,5,6,7-TETRAHYDRO-INDOL-4-ONE
70	5,045	0,73	1,4,12,15,18,26,31,39-Octaazapentacyclo[13.13.13.1(6,10).1(20,24).1(33,37)]tetratetraconta-4,6,8,10(44),11,18,20,22,24(43),25,3
71	5,11	0,26	Cyclopentanecarbonitrile, 5-hydroxy-1-methyl-3-oxo-2-(2-propenyl)-(CAS)
72	5,145	0,38	trans-4-n-butyl-2-methyl-thiacyclohexane
73	5,19	0,3	Pyrido[3,4-b]indole, 1,2,3,4-tetrahydro-1-(3-fluorophenyl)-
74	5,229	0,23	Aspidofractinin-3-ol, 17-methoxy-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
75	5,265	0,46	L-Cystine, N-[(2,4-dichlorophenoxy)acetyl]- (CAS)
76	5,299	0,44	PERMETHYL AC-ASN-PHE-PHE-TRP-(AC)LYS-OME
77	5,31	0,55	7-Methyl ester, 19,10-lactone derivative of ent-13-Acetoxy-3.alpha.-benzoyloxy-10.beta.-hydroxy-16-oxo-17,20-dinorgibberell-1-e
78	5,354	0,09	9-bromo-4-(bromomethyl)camphor
79	5,38	0,58	Diborane(6), di-.mu.-amino-1,1:3,3-bis(1,5-cyclooctanediy)-
80	5,421	0,32	Pregnane-3,20-diol, bis(trifluoroacetate), (3.beta.,5.alpha.)- (CAS)
81	5,45	1,1	4-methylidene-6,7-dimethoxy-3-nicotinoyl-2H-1,3-benzothiazine
82	5,543	0,71	7-Hydroxy-9-[2-(3-hydroxy-hept-6-enyl)-[1,3]dithian-2-yl]-non-4-ynoic acid
83	5,59	0,34	.beta.-L-Altropyranoside, phenylmethyl 2,4-bis(acetylamino)-2,4,6-trideoxy-,3-acetate (CAS)
84	5,611	0,35	pentacarbonyl[3-(diethylamino)-4-methyl-2,5-diphenyl-2H-pyrrole]chromium
85	5,669	0,49	4,4'-Carbonylbis(phenyl benzoate)
86	5,68	0,28	2-AMINO-4-(4-METHOXY-PHENYL)-6-(2-OXO-CYCLOHEXYLSULFANYL)-PYRIDINE-3,5-DICARBONITRILE
87	5,72	0,13	Jaborosalactone-D
88	5,746	0,27	Psammaphysin-B acetamide diacetate
89	5,77	0,18	Iron, octacarbonyl[.mu.-(diphosphorous tetrafluoride-P:P')]di-
90	5,829	0,46	1H-Thiopyrano[3,4-c]pyridine-5-carbonitrile, 3,4-dihydro-6-(4-acetyl-1-piperazinyl)-8-butyl-3,3-dimethyl-
91	5,854	0,54	(2S,4R)-methyl 2-methyl-4-(2'-methyl-1',3'-dioxolan-2'-yl)-pentanoate
92	5,939	0,23	3,3,6,6,9,9,12,12-Octachloropentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)]dodecane
93	5,961	0,18	spiro[2-oxo-6-methoxy-1-benzerole,-3,8'-2'-aza-10'-oxa-2'-(2'',2'',2''-trichloroethoxycarbonyl)-4'-ethylene-tricyclo[3.4.1.2(7',12
94	5,98	0,11	1,4-Dimethylcyclododeca-5,11-diene-1,4-diol
95	6,1	1,15	(1,2
96	6,13	0,37	4H-1,16-Etheno-5,15-(propaniminoethano)furo[3,4-l][1,5,10]triazacyclohexadecine-4,21-dione, 3,3a,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15-dode
97	6,166	0,17	2-PIPERIDINECARBOXYLIC ACID, 1-(TRIMETHYLSILYL)-, TRIMETHYLSILYL ESTER
98	6,195	0,1	Silane, (estra-1,3,5(10)-trien-3,17.alpha.-ylenedioxy)bis[trimethyl-(CAS)
99	6,211	0,07	1-(8-METHOXY-QUINOLINE-4-SULFONYL)-OCTAHYDRO-QUINOLIN-4-ONE
100	6,234	0,25	(3-Oxo-3H-benzo[f]chromen-1-yl)-acetic acid ethyl ester
101	6,263	0,28	d-Glucitol, 1-S-hexyl-1-thio-
102	6,295	0,3	L-Glutamic acid, N-[(2,4-dichlorophenoxy)acetyl]- (CAS)
103	6,324	0,13	3,4-Dimethoxyphenylalanine, di-TMS
104	6,335	0,1	MYRTIFOLOL
105	6,365	0,32	(Chlorosulfonyl)cymantrene

106	6,39	0,37	N,N'-(3,5-DICHLORO-2,6-PYRIDINEDIYL)BIS-DIACETAMIDE
107	6,45	0,39	11,13-Dihydroxy-tetradec-5-ynoic acid, methyl ester
108	6,515	0,56	5.EPSILON.-METHOXYCARBONYL-3,3,5-TRIMETHYLISOXAZOLIDINE
109	6,54	0,33	3,5-Dihydroxydecanoic acid .delta.-lactone
110	6,575	0,12	2-METHYL-7,9-DINITRO-1,2,3,4-TETRAHYDRO-DIBENZOFURAN
111	6,585	0,05	4-[5-(3,4-DICHLORO-PHENYL)-FURAN-2-YLMETHYLENE]-3-PHENYL-4H-ISOXAZOL-5-ONE
112	6,624	0,27	1-BUTYL-2-(4-CHLORO-PHENYL)-5,7-DIMETHYL-1H,7H-1,3A,5,7,8-PENTAAZA-CYCLOPENTA[A]INDENE-4,6-DIONE
113	6,645	0,11	1-Docosanol acetylated
114	6,675	0,24	2-Propanone, 1,1,1,3,3-pentachloro- (CAS)
115	6,69	0,05	1,4,12,15,18,26,31,39-Octaazapentacyclo[13.13.13.1(6,10).1(20,24).1(33,37)]tetratetraconta-4,6,8,10(44),11,18,20,22,24(43),25,3
116	6,71	0,15	7-Ethoxycarbonyl-2,2,4-trimethyl-2H,6H-pyrimido[2,1-b][1,3]thiazin-6-one
117	6,739	0,27	DI(2,2-DIMETHYLTHIO-N-(2-HYDROXYBENZYLIDEN)ETHYLAMINE)COBALT
118	6,775	0,13	d:a-Friedooleanane-3,7-diol, 3-acetate (CAS)
119	6,81	0,18	7-(Diethylamino)-2-(methylimino)-2H-chromene-3-carboxamide
120	6,83	0,38	7,9-Dichloro-4-(2-fluoro-phenyl)-2,2-bis-trifluoromethyl-2H-pyrido[1,2-a][1,3,5]triazine
121	6,879	0,4	1.alpha.-hydroxy-15-oxomarasmene
122	6,954	0,27	1,3,4-Triazine-2,4-diamine, N,N'-bis(1-methylethyl)- (CAS)
123	6,977	0,14	N,N-DIMETHYL-N'-(6-P-AMSYL-3-CARBOTHIOYL-2H-THIOPYRAN)FORMAMIDINE
124	7,009	0,47	3',3'-bis-[ISO-OXYPEUCEDANIN]
125	7,03	0,08	DIMETHYL 17,22-SECOOLEAN-12-EN-22,28-DIOATE
126	7,058	0,4	1,2-BIS(BIS[2-CHLOROETHYL]PHOSPHATO) ETHANE
127	7,127	0,69	Dimethylpentaborane
128	7,171	0,22	8,9-Benzodispiro[2.0.2.4]decane, 7-(3-methoxy-2-oxa-1-oxocyclopent-5-yl)-10-phenyl-
129	7,195	0,37	(1R*,2R*,2'S*)-2-(3,3-Dimethylbutyl)-3-methyl-3-cyclohexene-1,2'-sultone
130	7,21	0,49	ANISYLIDENE ACETONE
131	7,256	0,2	6-AMINO-3-(4-BROMO-PHENYL)-4-(3-CHLORO-4-HYDROXY-5-METHOXY-PHENYL)-1,4-DIHYDRO-PYRANO[2,3-C]PYRAZOLE-5-CARBONITRILE
132	7,285	0,7	Iron, octacarbonyl[.mu.-(diphosphorous tetrafluoride-P:P')]di-
133	7,381	0,63	Methanethione, bis(4-methoxyphenyl)- (CAS)
134	7,405	0,23	Acetophenazine
135	7,45	0,24	Nicomorphine
136	7,46	0,26	Epoxyflabellin
137	7,505	0,26	Cholestane, 3,3-dimethoxy-, (5.alpha.)- (CAS)
138	7,52	0,07	(2,2,4,4,9.ALPHA.,16,16-D8)-3.ALPHA.,17.BETA.-DIHYDROXY-5.BETA.-ANDROSTAN-11-ONE
139	7,531	0,11	(1S,4S,5R)-4-Bromo-1,5-dimethyl-7-(4-methylphenyl)bicyclo[3.2.1]oct-6-en-2-one
140	7,54	0,11	3-Methylcyclopentadec-4-en-1-ol
141	7,551	0,09	2-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-hydroxyethyl-4-piperidone ethylene acetal
142	7,581	0,34	1-Nitrocoronene

143	7,595	0,23	ACETIC ACID, (5,7-DIMETHYL-[1,2,4]TRIAZOLO[1,5-A]PYRIMIDIN-2-YLSULFANYL)-, METHYL ESTER
144	7,64	0,67	ent-3.alpha.,10.beta.,13-Trihydroxy-1.alpha.-iodo-2.beta.-methyl-20-nor-gibberell-16-ene-7,19-dioic acid 7-methyl ester 19,10-l
145	7,695	0,07	1-BENZOTHIOPHENE-3-CARBONITRILE, 2-[3,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4-(4-METHOXYPHENYL)-2,5-DIOXO-1(2H)-QUINOLINYL]-4,5,6,7-TETRAHYDRO-
146	7,705	0,25	3-benzoyl-5-hydroxyflavone
147	7,736	0,27	Ethyl E-(4aR*,10R*,10aR*)-10-Hydroxy-7-methoxy-3,4,4a,9,10,10a-hexahydrophenanthren-2(1H)-ylideneacetate
148	7,765	0,21	N'-(2-ETHOXYBENZYLIDENE)-2-(4-IODOPHENOXY)ACETHYDRAZIDE
149	7,786	0,22	Benzeneacetamide, N-[2-amino-1-[(phenylamino)carbonyl]ethenyl]- (CAS)
150	7,826	0,63	Acetamide, 2-(1H-purin-6-ylthio)-N-[(tetrahydro-2-furanyl)methyl]-
151	7,878	0,59	Disulfide, bis(4-chlorophenyl) (CAS)
152	7,915	0,15	7-ethoxy-2,5-diacetylaminocridine
153	7,936	0,61	Benzenesulfonamide, N-[1-(1-adamantyl)propyl]-4-methoxy-
154	7,985	0,23	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N,N'-diethyl-6-(methylthio)- (CAS)
155	8,018	0,32	Ethyl 4-(2-Bromophenyl)-4-(p-toluenesulfonyl)butanoate
156	8,045	0,17	Silane, [[2-[3-methyl-6-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-1,3-phenylene]bis(oxy)]bis(dimethyl(phenylmethyl)-, (1R-t
157	8,055	0,1	Pregna-4,6-diene-20.alpha.-carboxylic acid, 3,12-dioxo-, methyl ester (CAS)
158	8,08	0,32	Cyclohexanooxazin-2(1H)-one, 3,9-dihydro-6,8-isopropylideno-9-methyl-
159	8,113	0,43	Octadecanoic acid, 1-[(dodecyloxy)methyl]-1,2-ethanediyl ester (CAS)
160	8,135	0,07	2-Dideuteriomethylidene-1,3,6-trimethyltricyclo[5.4.0.0(3,9)]undecane
161	8,145	0,08	2,4,5-Trichlorothioanisole
162	8,176	0,29	2-(1H-IMIDAZOL-1-YL)-4-(4-METHYL-1-PIPERAZINYL)-6-PHENYL-1,3,5-TRIAZINE
163	8,185	0,13	VALERYLALDEHYDE-2,4-DNP-D1
164	8,194	0,11	5.beta.-Androstan-17-one, 11.beta.-hydroxy-3.alpha.-(trimethylsiloxy)- (CAS)
165	8,205	0,13	KYNURENINE TRI-TMS
166	8,251	0,75	5-METHYL-1-(4-MORPHOLIN-4-YL-6-PIPERIDIN-1-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1H-[1,2,3]TRIAZOLE-4-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
167	8,303	0,37	1,2-Oxaphosphole, 2-chloro-3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-2,5-dihydro-, 2-oxide (CAS)
168	8,325	0,23	2-Acetyl-2-(phenylethynyl)cyclohexan-1-ol
169	8,35	0,29	1-[1,4]DIOXAN-2-YLMETHYL-3-(4-ETHOXY-PHENYL)-THIOUREA
170	8,399	0,28	Heptanedioic acid, dibutyl ester (CAS)
171	8,431	0,2	Lanostan-7-one (CAS)
172	8,455	0,41	3-Bromo-5-(vinylthio)pyridine
173	8,496	0,32	Molybdenum, dicarbonyl-bis(.eta.-4-R(+)-pulegone)
174	8,529	0,42	Methyl 3,6-dimethyl-6-[3',3'-dimethyl-2'-(3"-oxobuty)-1'-cyclohexenyl]-hexanoate
175	8,561	0,2	Aspidofractinine-1-carboxaldehyde, 3-oxo-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
176	8,6	0,82	1,3,2-Dioxaborolane, 2-[(2-methylcyclohexyl)oxy]- (CAS)
177	8,67	0,33	NUMERSTEROL A
178	8,705	0,21	4,4'-Bis[[[(6-methylpyrid-2-yl)amino]carbonyl]biphenyl
179	8,73	0,33	Indol-2(3H)-one, 5-bromo-3-(2-quinolinylmethylene)-

180	8,76	0,11	2-BUTOXY-4,6-DI(4-MORPHOLINYL)-1,3,5-TRIAZINE
181	8,818	0,73	Propanedioic acid, (bromomethyl)methyl-, bis[5,6-bis(hydroxyimino)heptyl] ester (CAS)
182	8,885	0,37	5-Hydroxytetraatriacontan-9-one
183	8,895	0,1	5-Isoxazolidinecarboxylic acid, 5-methyl-2-[2,3:5,6-bis-O-(1-methylethylidene)-.alpha.-D-mannofuranosyl]-, methyl ester, (S)- (
184	8,906	0,35	PHOSPHINE, (ETHOXY)DIPHENYL-
185	8,95	0,2	Oxychlordan
186	8,995	0,25	(+)-3-(3-(2H)HYDROXY-BUTYRYL(2H)AMINO-2-(1-2H)PIPERIDONE
187	9,015	0,36	N-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-3-(4-PHENYL-PIPERAZIN-1-YL)-PROPIONAMIDE
188	9,04	0,39	ETHYL 4-[5-(2,4-DICHLOROPHENYL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-YL]BENZOATE
189	9,066	0,36	hexachlorobenzene
190	9,09	0,12	1-(4-BROMO-2-FLUORO-PHENYL)-4-THIOPHEN-3-YL-4,6,7,8-TETRAHYDRO-1H,3H-QUINOLINE-2,5-DIONE
191	9,101	0,28	.ALPHA.-D-GLUCOFURANOSE CYCLIC-1,2:3,5-BIS(BUTANEBORONATE)6-O-ACETATE
192	9,125	0,07	Lead[ii] bis(dipropyldithiophosphate)
193	9,135	0,14	Ethylphoshonic acid, fluoroanhydride, 2-ethoxyethyl ester
194	9,161	0,13	8-METHOXY-2-OXO-2H-CHROMENE-3-CARBOXYLIC ACID [2-(5-BROMO-2-METHYL-1H-INDOL-3-YL)-ETHYL]-AMIDE
195	9,18	0,23	2-(3-METHOXYPHENOXY)-N-(5-METHYL-3-ISOXAZOLYL)ACETAMIDE
196	9,2	0,15	Succinic acid, 2-acetyl-2-isopropyl-, diethyl ester
197	9,226	0,42	Benzene, 1,3,5-trichloro-2-(4-nitrophenoxy)- (CAS)
198	9,259	0,51	1,2-Nonadecanediol (CAS)
199	9,295	0,28	(3a.alpha.,8a.alpha.)-8.beta.-hydroxyoctahydro-2H-cyclohepta[b]furan-2-one
200	9,324	0,3	2-METHYL-4,6-CHLOROPHENOL-TRIMETHYL-SILYL-ETHER
201	9,345	0,66	Benzenesulfonamide, 4-amino-N-(2-methoxyphenyl)-
202	9,411	0,32	1,4,10-Trioxa-13-thia-7,16-diazacyclooctadecane-8,12,15-trione
203	9,445	0,42	2-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYLAMINO]-6-HYDROXYMETHYL-TETRAHYDRO-PYRAN-3,4,5-TRIOL
204	9,469	0,5	7-Bromo-2,3-dihydro-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin-2-thione
205	9,515	1,27	1,3,6,9b-Tetraazaphenalene-4-carbonitrile, 7-bromo-2-(dibromomethyl)-
206	9,55	0,29	3-[4-(2-FUROYL)-1-PIPERAZINYL]-1-[4-(HEXYLOXY)PHENYL]-2,5-PYRROLIDINEDIONE
207	9,575	0,29	N-(4-BROMO-PHENYL)-3-(O-TOLYLAMINOOXALYL-HYDRAZONO)-BUTYRAMIDE
208	9,604	0,33	1,3,4-Oxadiazole, 2-(5-bromo-2-pyridyl)-5-(4-nitrophenyl)-
209	9,644	0,56	ACETIC ACID, 2,3,4-TRICHLORO-6-(N-N-DIETHYLSULFAMOYL)PHENOXY, ETHYL ESTER
210	9,671	0,61	Cholesta-8,14-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- (CAS)
211	9,715	0,42	4-HYDROXY-6-METHYL-3-[2-(3-NITROPHENYL)-2,3-DIHYDROBENZO[B]]1,
212	9,744	0,6	[(2-NITRO-PHENYL)-HYDRAZONO]-[4-(2-OXO-2H-CHROMEN-3-YL)-THIAZOL-2-YL]-ACETONITRILE
213	9,776	0,5	3-(O-CHLOROPHENYL)-1-PHENYL-PROPANAL-2-ENE OXIME
214	9,808	0,35	(+)-(2RS,4SR,1'RS)-2-(1'-t-butyl dimethylsiloxyethyl)-5,8-dimethoxy-4-methoxymethoxy-1,2,3,4-tetrahydroaphthalen-2-ol
215	9,836	0,45	2-(3',5'-Dimethylpyrazolyl)-3-methoxycarbonyl)-1-[N-(p-tolyl)]propionamide

216	9,855	0,32	2-Ethenyl-4,4-dimethylcyclopentane-1-carboxaldehyde Dimethyl Acetal
217	9,909	0,64	Hexadecanoic acid, 1,4-butanediyl ester (CAS)
218	9,957	0,42	Hexadecanoic acid, 16-(trimethylsiloxy)-, methyl ester (CAS)
219	9,99	0,2	(2S,4R,5R)-4-tert-Butyldiphenylsilyloxy-5,6-cyclohexylidenedioxy-1,2-epoxyhexane
220	10,02	0,38	BORINIC ACID, DIETHYL-, [2-(CYCLOHEXYLIMINO)CYCLOOCTYL]PHENYLMETHYL ESTER
221	10,061	0,54	1-Carboxycyclopropane-2-acetic acid(Z),dimethyl ester
222	10,12	0,51	7(S)-10-OXO-4X1-METHYL-7-ISOPROPYL-5E-UNDECEN-4-OLIDE
223	10,166	0,47	7-Bromo-5-(3-bromophenyl)-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-2-one
224	10,195	0,3	Tetrakis(trimethylsilyl) derivative of .alpha.-Cortol
225	10,24	0,62	N-METHYL-P-CHLOROBENZENESULFONAMIDE
226	10,309	0,25	DIOXYLUCIFERIN
227	10,338	0,23	Aspidospermidine-1-acetic acid, 17-hydroxy-16-methoxy-.alpha.-methyl-, methyl ester (CAS)
228	10,37	0,18	Cyclopropanepentadecanoic acid, 2-octadecyl-, methyl ester (CAS)
229	10,381	0,1	(1R,4S,10S)-5,6,7,8,10-Pentachloro-5,8-dihydro-10-methoxy-2-phenyl-5,8-methano-(1H)-[1,2,4]triazolo[1,2-a]pyridazine-1,3(2H)-di
230	10,4	0,39	4-(1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-1-(3-CHLOROPHENYL)-3-(2-METHYLPHENOXY)-2-AZETIDINONE
231	10,447	0,25	7-(CHLORO-DIFLUORO-METHYL)-5-THIOPHEN-2-YL-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDINE-2-CARBOXYLIC ACID (4-DIETHYLAMINO-PHENYL)-AMIDE
232	10,47	0,11	2-[7-(4-BROMO-BENZYLIDENE)-3-(4-BROMO-PHENYL)-3,3A,4,5,6,7-HEXAHYDRO-INDAZOL-2-YL]-4-METHYL-THIAZOLE-5-CARBOXYLIC ACID DIMETHYL
233	10,485	0,03	Aspidofractinine-1-carboxaldehyde, 3-oxo-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
234	10,523	0,21	N-(2-METHOXY-PHENYL)-3-[4-[2-(2-METHOXY-PHENYLCARBAMOYL)-ETHYL]-PIPERAZIN-1-YL]-PROPIONAMIDE
235	10,575	0,3	2-[1-(2-Hydroxy-ethyl)-1H-benzoimidazol-2-ylsulfanyl]-acetamide
236	10,585	0,12	Tetrahydro-2,5-bis(3,3,3-trifluoropropyl)-2-(5,5,5-trifluoro-2-trifluoromethylpentyl)furan
237	10,614	0,03	(2,2,4,4,6,16-D6)-3.ALPHA.,17.BETA.-DIHYDROXY-5.BETA.-ANDROSTAN-11-ONE
238	10,64	0,16	3-Oxobutyric acid, 2-(2-oxocycloheptyl)methyl-, ethyl ester
239	10,675	0,15	cis-Dihydrotodomatuic acid
240	10,714	0,31	4(1H)-Isobenzofuranone, hexahydro-3a,7a-dimethyl-, cis-(.-+.-) (CAS)
241	10,754	0,32	1-Bromoheptadecane-1-13C
242	10,806	0,51	Ethanone, 1-(4-morpholyl)-2-(2-pyridylthio)-
243	10,845	0,15	1-Tetradecanol (CAS)
244	10,914	0,41	Tin, dichlorobis(2,4-pentanedionato-O,O')-, (OC-6-22)- (CAS)
245	10,94	0,17	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-trimethyl-, methyl ester, [1R-(1.alpha
246	11,026	0,82	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N,N'-diethyl-6-methoxy-N-methyl- (CAS)
247	11,075	0,54	.ALPHA.,.ALPHA.,.ALPHA.-TRIFLUORO-2,6-DINITRO-N-(PROPAN-3-OL)-P-TOLUIDINE
248	11,17	0,8	1-(2,3-Dimethoxybenzyl)pyrrole-2-carboxylic acid diethyl amide
249	11,19	0,17	2H-Pyran-5-carboxylic acid, 4,6-dimethyl-2-oxo-, ethyl ester (CAS)
250	11,235	0,32	1,5-Naphthalenediol, decahydro- (CAS)
251	11,255	0,29	2-(2-Vinyloxy-ethoxy)-cyclohexanol
252	11,281	0,33	Gibberellin A3 (CAS)

253	11,31	0,09	Loba-8,10,13(15)-triene-17,18-diol - 18-Acetate
254	11,321	0,28	3-(Acetylhydrazono)-N-mesitylbutyramide
255	11,345	0,16	Vitamin A alcohol
256	11,377	0,31	1,25-DIHYDROXY VITAMIN D2
257	11,405	0,17	2-(6-BUTYLAMINO-PURIN-9-YL)-5-HYDROXYMETHYL-TETRAHYDRO-FURAN-3,4-DIOL
258	11,441	0,27	(R*,R*)-2-(1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-1-methoxyethyl)-2-hydroxy-cyclobutanone
259	11,47	0,16	17.BETA.-MARSDENINE
260	11,5	0,1	10-Bromo-2,7-dioxatricyclo[4.3.1.0(3,8)]decane
261	11,545	0,05	1-Propanone, 1-cyclopropyl-, o-methyloxime (CAS)
262	11,57	0,15	Levallorphan
263	11,598	0,21	5Alpha-cholestane-3beta,5,6beta-triol 3,6-diacetate
264	11,61	0,17	LOBARIC ACID dervative
265	11,64	0,17	3-hydroxy-5-octylthiophenyl-4-ethanoate
266	11,65	0,11	1-(4-tert-Butyl)phenyl-2-methyl-2,5-pentanediol
267	11,675	0,22	3-Methylriboflavin tetraacetate
268	11,695	0,25	9-Borabicyclo[3.3.1]nonane, 9-methyl-
269	11,74	0,46	Thiophene, 3-methyl-5-(2-methylhexyl)-2-tridecyl-
270	11,75	0,11	1R(*),2R(*),5Z,7S(*),8(17)Z,10R(*),11R(*),12S(*),14S(*)-14-Acetoxy-11,12-epoxy-epoxy-18-oxobriara-5,8(17)-dien-2-yl butanoate
271	11,76	0,24	Trimethylsilyl,trifluoro derivative of deuterio-Glu-leu
272	11,805	0,53	Decanoic acid, 5-ethyl-3,5,9-trimethyl-, methyl ester (CAS)
273	11,836	0,27	Azacyclodecan-5-ol
274	11,905	0,61	9,19-Cyclostanost-23-ene-3,25-diol, 3-acetate, (3.beta.,23E)- (CAS)
275	11,93	0,08	3-(4,6-DI-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1,2,3,4,5,6-HEXAHYDRO-1,5-METHANO-PYRIDO[1,2-A][1,5]DIAZOCIN-8-ONE
276	11,978	0,35	Decaborane(14) (CAS)
277	12,019	0,13	1-Phenazinecarboxylic acid, 6-[1-[(1-oxohexadecyl)oxy]ethyl]-
278	12,06	0,45	3-(tert-Butoxycarbonyl)-5-methyl-4,5-dihydroimidazo[1,5-a]benzo[f][1,4]diazepin-6-one
279	12,14	0,17	{(2R,3S,3aS)-2-(3',4'-Dimethoxyphenyl)-3,3a-dihydro-5-methoxy-3-methyl-3a-(2'-propenyl)-2-benzofuran-6(2H)-one
280	12,17	0,51	Aldrin-transdiol
281	12,215	0,43	METHYL D5-SORBATE
282	12,26	0,35	picolinyl dimethylsilyl cis-octadec-6-enol
283	12,301	0,36	7-hydroxy-2-methyl-6,11-dioxo-6,11-dihydroanthra[1,2-b]furan-8-carbaldehyde
284	12,33	0,34	1-(3-Cyclopentyloxy-4-methoxy-phenyl)-3-(3,5-difluoro-phenyl)-urea
285	12,395	0,62	METHYL 10-OXOUNDECANOATE-4,4,7,7-D4
286	12,435	0,38	9-Octadecenoic acid (Z)-, 3-[(1-oxohexadecyl)oxy]-2-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (CAS)
287	12,473	0,34	5-Nonanone, (2,4-dinitrophenyl)hydrazone (CAS)
288	12,501	0,13	pentakis(Dimethylsilyl)-dioxide
289	12,52	0,1	Benzenepropanoic acid, 3-methoxy-.alpha.,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester (CAS)
290	12,57	0,3	1-(2-NITRO-4-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL)-PIPERIDINE-4-CARBOXYLIC ACID [2-(2-METHYL-PIPERIDIN-1-YL)-5-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL]-AMIDE
291	12,591	0,25	5H-Dibenzo[a,d]cycloheptene-2,3,7,8-tetrol, 5-[(methylamino)methyl]- (CAS)

292	12,621	0,5	N-(2-Hydroxy-4-octanamidophenyl)-3,5-bis(1,1-dimethylpropyl)phenoxyacetamide
293	12,641	0,34	3-BROMO-6-(4-MORPHOLINYL)[1,2,4]TRIAZOLO[4,3-B]PYRIDAZINE
294	12,671	0,34	1(2H)-Phenanthrenone, 7-(acetyloxy)dodecahydro-8a-hydroxy-2,4b-dimethyl-, [2S-(2.alpha.,4a.alpha.,4b.beta.,7.beta.,8a.alpha.,10
295	12,68	0,22	Cinobufagin
296	12,69	0,16	5-phenyl-4-(p-bromophenyl)-3-[N-(.alpha.-benzoyl-benzyl)-N-p-tolyl-aminocarbonyl]-1,2,4-triazole
297	12,701	0,34	1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine, N,N-diethyl-N'-(1-methylethyl)-N''-[4-(phenylazo)phenyl]-
298	12,721	0,13	methyl 1.beta.-hydroxy-7a.beta.-methyl-5-oxo-2,3,3a.alpha.,4,5,6,7,7a-octahydro-1H-indene-4.alpha.-carboxylate
299	12,729	0,14	GIBBERELLIN A3 DERIVATIVE
300	12,754	0,49	2,2-Dimethylcyclopropanecarbonic acid,cyanomethyl ester
301	12,794	0,32	Cyclopropaneoctanoic acid, 2-[(2-pentylcyclopropyl)methyl]-, methyl ester, trans,trans- (CAS)
302	12,826	0,32	Acetamide, N-[4-(2-benzothiazolyl)aminosulfonylphenyl]-
303	12,86	0,15	decanedioic acid bis(2,2-dideuteropentyl) ester
304	12,885	0,11	2-(9-OXO-9,10-DIHYDROANTHRACEN-10-YLIDENEMETHYL)-5-(9-OXO-9,10-DIHYDROANTHRACEN-10-METHYL)FURAN
305	12,925	0,03	Propenoic acid, 3-(3-cyanophenyl)-2-(diethoxyphosphinyl)-, ethyl ester
306	12,945	0,12	Ibogamine, (2.alpha.,5.beta.,6.alpha.,18.beta.)- (CAS)
307	12,98	0,03	1-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene-6-methyl-1H,5H-furo[3,4-c]pyridine-3,4-dione
308	12,99	0,03	5(2'CHLOROPHENYL)-7-CHLORO-1,3-DIHYDRO-1,4-BENZODIAZEPIN-2H-2ACET
309	13,019	0,2	3,5,9-Trioxa-4-phosphapentacosan-1-aminium, 4-hydroxy-N,N,N-trimethyl-10-oxo-7-[(1-oxohexadecyl)oxy]-, hydroxide, inner salt, 4
310	13,082	0,39	2,4,6,8,9-Pentathiatricyclo[3.3.1.1(3,7)]decane-1-propanenitrile, 3,5,7-trimethyl- (CAS)
311	13,152	0,8	9-Octadecenoic acid, 2-(octadecyloxy)ethyl ester (CAS)

4. *B. subtilis* BK.R5

Peak	R. Time	Area%	Name
1	2,54	0,58	4,4-DI-TRIDEUTEROMETHYL-2-ALLYLCYCLOHEXANONE
2	2,58	0,08	1,1,2,2-Tetradeuteriospiropentane
3	2,60	0,22	Buxozine-C
4	2,64	0,64	4-[5-(Diethylaminosulfonyl)-2-(2-furyl)-1-benzimidazolyl]butyric acid
5	2,69	0,45	9-Oxabicyclo[4.3.0]non-6-en-8-one, 9-[2-methylenebicyclo[3.3.0]octane-3,6-dione-1-yl]-
6	2,73	0,75	Guaiol
7	2,81	0,49	2-(3-METHYLSULFANYL-6,7-DIHYDRO-BENZO[C]THIOPHENE-1-CARBONYL)-3-(3-TRIFLUOROMETHYL-PHENYLAMINO)-ACRYLONITRILE
8	2,84	0,27	1-[2-Bromo-1-(1-(p-nitrophenyl)ethylideneimino)ethylamino]-2-mercapto-5-[5-methyl-1-(4-methylphenyl)-1,2,3-triazol-4-yl]-1,3,4-
9	2,90	0,50	1'H-Cholest-2-eno[3,2-b]indol-6-one, 1'-(phenylmethyl)-, oxime, (5.alpha.)- (CAS)
10	2,92	0,27	Benzene, trinitro-ethyl-
11	2,97	0,33	2-(2-ACETOXY-1-(3',4',5'-TRIACETOXY-2-ACETOXYCARBONYLPYRAN-6-YLOXY)PHEN-4-YL-5,7-DIHYDROXY-3,6-DIMETHYLBENZO[B]PYRAN OR SPINATI
12	3,03	0,38	2-METHYL-5-ETHYL-2-(5'-ETHYL-2'-PICOLYL)-3-(1"-HYDROXY-3"-METHYLBUTYL)-6-PHENYL-4,5-DIDEHYDROPIPERIDINE
13	3,07	0,49	Nickel, [.mu.-(1,2-.eta.:3,4-.eta.)-1,3-butadiene]]bis[(1,2,3,4,5-.eta.)-1,2,3,4,5-pentamethyl-2,4-cyclopentadien-1-yl]di-, (n
14	3,10	0,25	N-(1-ETHYL-1-METHYL-2-PROPYNYL)-2-{5-[4-(METHYLSULFONYL)PHENYL]-2H-TETRAAZOL-2-YL}ACETAMIDE
15	3,13	0,14	1,4,10,13-Tetraoxa-7,16-diazacyclooctadecane, 7,16-bis(1-oxodecyl)-
16	3,17	0,15	Benzene, 1-methoxy-4-(trifluoroethenyl)- (CAS)
17	3,20	0,20	5-[(CHLOROACETYL)AMINO]-2-(4-CHLOROPHENOXY)BENZOIC ACID
18	3,21	0,09	TETRADECAMETHYLCYCLOHEPTASILOXANE
19	3,22	0,09	Thorium, (.eta.4-1,3-butadiene)bis[(1,2,3,4,5-.eta.)-1,2,3,4,5-pentamethyl-2,4-cyclopentadien-1-yl]-
20	3,23	0,07	TRIS(2-METHYL-1,3-BUTADIENE)TUNGSTEN
21	3,26	0,19	Cyclopropanedecanoic acid, 2-hexyl-.alpha.-hydroxy-, methyl ester (CAS)
22	3,34	0,27	Ethyl ester of 6,7-(isopropylidenedioxy)-4-(diethoxymethyl)-hept-4-eno (1R,2S,3S,4R)-1-(1,3-Benzodioxol-5-yl)-2,3-di(hydroxymethyl)-4-(3,4,5-trimethoxyphenyl)butan-1,4-diol
23	3,41	0,40	RUTHENIUM, (.ETA.5-2,4-CYCLOPENTADIEN-1-YL)(2-METHYL-2-PROPENYL)BIS(TRIMETHYLPHOSPHINE)-
24	3,46	0,16	7-(2,4-DIMETHOXY-PHENYL)-10,10-DIMETHYL-7,10,11,12-TETRAHYDRO-9H-BENZO[B][1,7]PHENANTHROLIN-8-ONE
25	3,51	0,16	7-(2,4-DIMETHOXY-PHENYL)-10,10-DIMETHYL-7,10,11,12-TETRAHYDRO-9H-BENZO[B][1,7]PHENANTHROLIN-8-ONE
26	3,56	0,59	Benzimidazol-5-amine, 1,2-dimethyl-N-(2-methoxybenzyl)-
27	3,61	0,24	dimethyl 3-methyl-4-(1-propenyl)-1-cyclohexene-1,4-dicarboxylate
28	3,64	0,08	2,4,6-Tris(4-chloromethylphenyl)-1,3,5-triazine
29	3,67	0,14	2-BENZYL-9-NITRO-4,5-DIHYDRO-(6H)-IMIDAZO[4,5,1-JK]-1,4-BENZODIAZEPINE
30	3,71	0,52	E-4,4-dimethyl-2-normonyl-4,5-dihydrooxazole
31	3,75	0,18	4-(5-BROMO-2-HYDROXY-PHENYL)-3,3-DIMETHYL-1-P-TOLYL-AZETIDIN-2-ONE
32	3,75	0,11	Stannane, tetracyclopentyl- (CAS)

33	3,80	0,46	1,4-Methanoanthracene,1,4-dihydro-9,10-dimethoxy-
34	3,85	0,44	Benzene, pentachloromethoxy- (CAS)
35	3,87	0,17	5,10-Disila-2,7,11,12-tetraboratricyclo[6.2.1.1(6,9)]dodecane, 1,2,6,7,11,12-hexaethyl-3,5,5,8,10,10-hexamethyl-
36	3,97	0,90	(1-Phenyl-3,4-dihydronaphthalene-2-yl)methyl acetate
37	3,99	0,11	2-[2'(2"-methylallyloxy)anilino]-2-phenylacetic acid
38	4,01	0,25	2-METHYL-4-(5-METHYL-FURAN-2-YL)-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID PHENETHYL ESTER
39	4,02	0,12	1,2-Ethanediamine, N,N'-didodecanoyl-
40	4,07	0,72	Methyl 9,10-epithio-1.alpha.,4.alpha.-dimethoxy-(hexahydro)anthracene-9-carboxylate
41	4,10	0,46	Acetamide, 2,2',2'',2'''-(1,2-ethanediyl)dinitrilo)tetrakis[n-heptyl-N-methyl-
42	4,13	0,56	Pregn-4-ene-3,20-dione, 6,16-dimethyl- (CAS)
43	4,15	0,42	2-(1-PIPERIDINYLCARBOTHIOYL)HYDRAZINECARBOTHIOAMIDE
44	4,18	0,31	Indole-3-carboxylic acid, 6-bromo-1-cyclohexyl-5-hydroxy-2-methyl-, ethyl ester
45	4,22	0,40	11-(6-CHLORO-1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-3-(3,4,5-TRIMETHOXYPHENYL)-2,3,4,5,10,11-HEXAHYDRO-1H-DIBENZO[B,E][1,4]DIAZEPIN-1-ONE HYDROC
46	4,24	0,32	4-(4-AMINO-6-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YLMETHOXY)-BENZOIC ACID METHYL ESTER
47	4,27	0,25	1-(Phenylthio)cyclopropyl-1-cyclohexylmethanol
48	4,31	0,48	Dilaudid
49	4,33	0,27	RHODOAPHIN-BE
50	4,36	0,37	PYRIDINE, 2,3,5,6-TETRACHLORO-4-(2-CHLORO-1-PENTYLTHIO)-
51	4,39	0,81	Benzene, 1,2-dibromo-4-(chlorodifluoromethoxy)-
52	4,45	0,47	OSTOPANIC ACID
53	4,47	0,20	3,3'-Di(1,2,4-oxadiazole), 5,5'-di(trichloromethyl)-
54	4,48	0,24	Thymidine, 5,6-dihydro-3,5-dimethyl-3',5'-di-O-methyl- (CAS)
55	4,52	0,31	Platinum, (.eta.-2,.eta.-2-hepta-1,6-diene)(triisopropylphosphine)
56	4,53	0,27	tetramethylene thieno[2,3-d]-tetrahydropyrido[1,2-a]-pyrimidin-4-one
57	4,57	0,43	3-(2,3-DIHYDRO-1,4-BENZODIOXIN-2-YL)-2H-1,2,4-BENZOTHIADIAZINE 1,1-DIOXIDE
58	4,59	0,33	Benzamide, N-(2'-benzoylphenyl)-2-bromo-
59	4,62	0,23	Uridine (CAS)
60	4,67	0,42	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,4.alpha.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
61	4,68	0,15	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,4.alpha.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
62	4,69	0,14	1-(tert-Butoxycarbonyl)-2,3'-(2-nitrotrimethylene)diindole
63	4,72	0,53	2',4',6'-tris(trimethylsilyloxy)chalcone
64	4,76	0,41	Pregnan-20-one, 3,17,21-tris[(trimethylsilyl)oxy]-, (3.alpha.,5.beta.)- (CAS)
65	4,79	0,29	Cholestan-6-one, 3-chloro-, (3.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
66	4,83	0,57	4-[1-Butyramido-2,2,2-trifluoro-1-(trifluoromethyl)ethylamino]-N-(2-pyrimidinyl)benzenesulfonamide
67	4,92	0,87	2-p-Nitroanilinonaphtho-1,2-quinone
68	4,96	0,27	Hymenoxin
69	5,03	0,80	1-(4-BROMO-PHENYL)-2,6,6-TRIMETHYL-3-(2,2,2-TRICHLORO-ETHYL)-1,5,6,7-TETRAHYDRO-INDOL-4-ONE

70	5,05	0,73	1,4,12,15,18,26,31,39-Octaazapentacyclo[13.13.13.1(6,10).1(20,24).1(33,37)]tetratetraconta-4,6,8,10(44),11,18,20,22,24(43),25,3
71	5,11	0,26	Cyclopentanecarbonitrile, 5-hydroxy-1-methyl-3-oxo-2-(2-propenyl)- (CAS)
72	5,15	0,38	trans-4-n-butyl-2-methyl-thiacyclohexane
73	5,19	0,30	Pyrido[3,4-b]indole, 1,2,3,4-tetrahydro-1-(3-fluorophenyl)-
74	5,23	0,23	Aspidofractinin-3-ol, 17-methoxy-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
75	5,27	0,46	L-Cystine, N-[(2,4-dichlorophenoxy)acetyl]- (CAS)
76	5,30	0,44	PERMETHYL AC-ASN-PHE-PHE-TRP-(AC)LYS-OME
77	5,31	0,55	7-Methyl ester, 19,10-lactone derivative of ent-13-Acetoxy-3.alpha.-benzoyloxy-10.beta.-hydroxy-16-oxo-17,20-dinorgibberell-1-e
78	5,35	0,09	9-bromo-4-(bromomethyl)camphor
79	5,38	0,58	Diborane(6), di-.mu.-amino-1,1:3,3-bis(1,5-cyclooctanediy)-
80	5,42	0,32	Pregnane-3,20-diol, bis(trifluoroacetate), (3.beta.,5.alpha.)- (CAS)
81	5,45	1,10	4-methylidene-6,7-dimethoxy-3-nicotinoyl-2H-1,3-benzothiazine
82	5,54	0,71	7-Hydroxy-9-[2-(3-hydroxy-hept-6-enyl)-[1,3]dithian-2-yl]-non-4-ynoic acid
83	5,59	0,34	.beta.-L-Altropyranoside, phenylmethyl 2,4-bis(acetylamino)-2,4,6-trideoxy-,3-acetate (CAS)
84	5,61	0,35	pentacarbonyl[3-(diethylamino)-4-methyl-2,5-diphenyl-2H-pyrrole]chromium
85	5,67	0,49	4,4'-Carbonylbis(phenyl benzoate)
86	5,68	0,28	2-AMINO-4-(4-METHOXY-PHENYL)-6-(2-OXO-CYCLOHEXYLSULFANYL)-PYRIDINE-3,5-DICARBONITRILE
87	5,72	0,13	Jaborosalactone-D
88	5,75	0,27	Psammaphysin-B acetamide diacetate
89	5,77	0,18	Iron, octacarbonyl[.mu.-(diphosphorous tetrafluoride-P:P')]di-
90	5,83	0,46	1H-Thiopyrano[3,4-c]pyridine-5-carbonitrile, 3,4-dihydro-6-(4-acetyl-1-piperazinyl)-8-butyl-3,3-dimethyl-
91	5,85	0,54	(2S,4R)-methyl 2-methyl-4-(2'-methyl-1',3'-dioxolan-2'-yl)-pentanoate
92	5,94	0,23	3,3,6,6,9,9,12,12-Octachloropentacyclo[9.1.0.0(2,4).0(5,7).0(8,10)]dodecane
93	5,96	0,18	spiro[2-oxo-6-methoxy-1-benzole,-3,8'-2'-aza-10'-oxa-2'-(2'',2'',2''-trichloroethoxycarbonyl)-4'-ethylene-tricyclo[3.4.1.2(7,12
94	5,98	0,11	1,4-Dimethylcyclododeca-5,11-diene-1,4-diol
95	6,10	1,15	(1,2
96	6,13	0,37	4H-1,16-Etheno-5,15-(propaniminoethano)furo[3,4-l][1,5,10]triazacyclohexadecine-4,21-dione, 3,3a,6,7,8,9,10,11,12,13,14,15-dode
97	6,17	0,17	2-PIPERIDINECARBOXYLIC ACID, 1-(TRIMETHYLSILYL)-, TRIMETHYLSILYL ESTER
98	6,20	0,10	Silane, (estra-1,3,5(10)-trien-3,17.alpha.-ylenedioxy)bis[trimethyl- (CAS)
99	6,21	0,07	1-(8-METHOXY-QUINOLINE-4-SULFONYL)-OCTAHYDRO-QUINOLIN-4-ONE
100	6,23	0,25	(3-Oxo-3H-benzo[f]chromen-1-yl)-acetic acid ethyl ester
101	6,26	0,28	d-Glucitol, 1-S-hexyl-1-thio-
102	6,30	0,30	L-Glutamic acid, N-[(2,4-dichlorophenoxy)acetyl]- (CAS)
103	6,32	0,13	3,4-Dimethoxyphenylalanine, di-TMS
104	6,34	0,10	MYRTIFOLOL
105	6,37	0,32	(Chlorosulfonyl)cymantrene
106	6,39	0,37	N,N'-(3,5-DICHLORO-2,6-PYRIDINEDIYL)BIS-DIACETAMIDE
107	6,45	0,39	11,13-Dihydroxy-tetradec-5-ynoic acid, methyl ester

108	6,52	0,56	5.EPSILON.-METHOXYCARBONYL-3,3,5-TRIMETHYLISOXAZOLIDINE
109	6,54	0,33	3,5-Dihydroxydecanoic acid .delta.-lactone
110	6,58	0,12	2-METHYL-7,9-DINITRO-1,2,3,4-TETRAHYDRO-DIBENZOFURAN
111	6,59	0,05	4-[5-(3,4-DICHLORO-PHENYL)-FURAN-2-YLMETHYLENE]-3-PHENYL-4H-ISOXAZOL-5-ONE
112	6,62	0,27	1-BUTYL-2-(4-CHLORO-PHENYL)-5,7-DIMETHYL-1H,7H-1,3A,5,7,8-PENTAAZA-CYCLOPENTA[A]INDENE-4,6-DIONE
113	6,65	0,11	1-Docosanol acetylated
114	6,68	0,24	2-Propanone, 1,1,1,3,3-pentachloro- (CAS)
115	6,69	0,05	1,4,12,15,18,26,31,39-Octaazapentacyclo[13.13.13.1(6,10).1(20,24).1(33,37)]tetratetraconta-4,6,8,10(44),11,18,20,22,24(43),25,3
116	6,71	0,15	7-Ethoxycarbonyl-2,2,4-trimethyl-2H,6H-pyrimido[2,1-b][1,3]thiazin-6-one
117	6,74	0,27	DI(2,2-DIMETHYLTHIO-N-(2-HYDROXYBENZYLIDEN)ETHYLAMINE)COBALT
118	6,78	0,13	d:a-Friedooleanane-3,7-diol, 3-acetate (CAS)
119	6,81	0,18	7-(Diethylamino)-2-(methylimino)-2H-chromene-3-carboxamide
120	6,83	0,38	7,9-Dichloro-4-(2-fluoro-phenyl)-2,2-bis-trifluoromethyl-2H-pyrido[1,2-a][1,3,5]triazine
121	6,88	0,40	1.alpha.-hydroxy-15-oxomarasmane
122	6,95	0,27	1,3,4-Triazine-2,4-diamine, N,N'-bis(1-methylethyl)- (CAS)
123	6,98	0,14	N,N-DIMETHYL-N'-(6-P-AMSYL-3-CARBOTHIOYL-2H-THIOPYRAN)FORMAMIDINE
124	7,01	0,47	3',3'-bis-[ISO-OXYPEUCEDANIN]
125	7,03	0,08	DIMETHYL 17,22-SECOOLEAN-12-EN-22,28-DIOATE
126	7,06	0,40	1,2-BIS(BIS[2-CHLOROETHYL]PHOSPHATO) ETHANE
127	7,13	0,69	Dimethylpentaborane
128	7,17	0,22	8,9-Benzodispiro[2.0.2.4]decane, 7-(3-methoxy-2-oxa-1-oxocyclopent-5-yl)-10-phenyl-
129	7,20	0,37	(1R*,2R*,2'S*)-2-(3,3-Dimethylbutyl)-3-methyl-3-cyclohexene-1,2'-sultone
130	7,21	0,49	ANISYLIDENE ACETONE
131	7,26	0,20	6-AMINO-3-(4-BROMO-PHENYL)-4-(3-CHLORO-4-HYDROXY-5-METHOXY-PHENYL)-1,4-DIHYDRO-PYRANO[2,3-C]PYRAZOLE-5-CARBONITRILE
132	7,29	0,70	Iron, octacarbonyl[.mu.-(diphosphorous tetrafluoride-P:P')]di-
133	7,38	0,63	Methanethione, bis(4-methoxyphenyl)- (CAS)
134	7,41	0,23	Acetophenazine
135	7,45	0,24	Nicomorphine
136	7,46	0,26	Epoxyflabellin
137	7,51	0,26	Cholestane, 3,3-dimethoxy-, (5.alpha.)- (CAS)
138	7,52	0,07	(2,2,4,4,9.ALPHA.,16,16-D8)-3.ALPHA.,17.BETA.-DIHYDROXY-5.BETA.-ANDROSTAN-11-ONE
139	7,53	0,11	(1S,4S,5R)-4-Bromo-1,5-dimethyl-7-(4-methylphenyl)bicyclo[3.2.1]oct-6-en-2-one
140	7,54	0,11	3-Methylcyclopentadec-4-en-1-ol
141	7,55	0,09	2-(3,4-dimethoxyphenyl)-1-hydroxyethyl-4-piperidone ethylene acetal
142	7,58	0,34	1-Nitrocoronene
143	7,60	0,23	ACETIC ACID, (5,7-DIMETHYL-[1,2,4]TRIAZOLO[1,5-A]PYRIMIDIN-2-YLSULFANYL)-, METHYL ESTER
144	7,64	0,67	ent-3.alpha.,10.beta.,13-Trihydroxy-1.alpha.-iodo-2.beta.-methyl-20-nor-gibberell-16-ene-7,19-dioic acid 7-methyl ester 19,10-l

145	7,70	0,07	1-BENZOTHIOPHENE-3-CARBONITRILE, 2-[3,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-4-(4-METHOXYPHENYL)-2,5-DIOXO-1(2H)-QUINOLINYL]-4,5,6,7-TETRAHYDRO-
146	7,71	0,25	3-benzoyl-5-hydroxyflavone
147	7,74	0,27	Ethyl E-(4aR*,10R*,10aR*)-10-Hydroxy-7-methoxy-3,4,4a,9,10,10a-hexahydrophenanthren-2(1H)-ylideneacetate
148	7,77	0,21	N'-(2-ETHOXYBENZYLIDENE)-2-(4-IODOPHENOXY)ACETHYDRAZIDE
149	7,79	0,22	Benzeneacetamide, N-[2-amino-1-[(phenylamino)carbonyl]ethenyl]- (CAS)
150	7,83	0,63	Acetamide, 2-(1H-purin-6-ylthio)-N-[(tetrahydro-2-furanyl)methyl]-
151	7,88	0,59	Disulfide, bis(4-chlorophenyl) (CAS)
152	7,92	0,15	7-ethoxy-2,5-diacetylaminoadridine
153	7,94	0,61	Benzenesulfonamide, N-[1-(1-adamantyl)propyl]-4-methoxy-
154	7,99	0,23	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N,N'-diethyl-6-(methylthio)- (CAS)
155	8,02	0,32	Ethyl 4-(2-Bromophenyl)-4-(p-toluenesulfonyl)butanoate
156	8,05	0,17	Silane, [[2-[3-methyl-6-(1-methylethenyl)-2-cyclohexen-1-yl]-5-pentyl-1,3-phenylene]bis(oxy)]bis[dimethyl(phenylmethyl)-, (1R-t
157	8,06	0,10	Pregna-4,6-diene-20.alpha.-carboxylic acid, 3,12-dioxo-, methyl ester (CAS)
158	8,08	0,32	Cyclohexanooxazin-2(1H)-one, 3,9-dihydro-6,8-isopropylideno-9-methyl-
159	8,11	0,43	Octadecanoic acid, 1-[(dodecyloxy)methyl]-1,2-ethanediyl ester (CAS)
160	8,14	0,07	2-Dideuteriomethylidene-1,3,6-trimethyltricyclo[5.4.0.0(3,9)]undecane
161	8,15	0,08	2,4,5-Trichlorothioanisole
162	8,18	0,29	2-(1H-IMIDAZOL-1-YL)-4-(4-METHYL-1-PIPERAZINYL)-6-PHENYL-1,3,5-TRIAZINE
163	8,19	0,13	VALERYLALDEHYDE-2,4-DNP-D1
164	8,19	0,11	5.beta.-Androstan-17-one, 11.beta.-hydroxy-3.alpha.-(trimethylsiloxy)- (CAS)
165	8,21	0,13	KYNURENINE TRI-TMS
166	8,25	0,75	5-METHYL-1-(4-MORPHOLIN-4-YL-6-PIPERIDIN-1-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1H-[1,2,3]TRIAZOLE-4-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
167	8,30	0,37	1,2-Oxaphosphole, 2-chloro-3,5-bis(1,1-dimethylethyl)-2,5-dihydro-, 2-oxide (CAS)
168	8,33	0,23	2-Acetyl-2-(phenylethynyl)cyclohexan-1-ol
169	8,35	0,29	1-[1,4]DIOXAN-2-YLMETHYL-3-(4-ETHOXY-PHENYL)-THIOUREA
170	8,40	0,28	Heptanedioic acid, dibutyl ester (CAS)
171	8,43	0,20	Lanostan-7-one (CAS)
172	8,46	0,41	3-Bromo-5-(vinylthio)pyridine
173	8,50	0,32	Molybdenum, dicarbonyl-bis(.eta.-4-R(+)-pulegone)
174	8,53	0,42	Methyl 3,6-dimethyl-6-[3',3'-dimethyl-2'-(3"-oxobuty)-1'-cyclohexenyl]-hexanoate
175	8,56	0,20	Aspidofractinine-1-carboxaldehyde, 3-oxo-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
176	8,60	0,82	1,3,2-Dioxaborolane, 2-[(2-methylcyclohexyl)oxy]- (CAS)
177	8,67	0,33	NUMERSTEROL A
178	8,71	0,21	4,4'-Bis[[[(6-methylpyrid-2-yl)amino]carbonyl]biphenyl
179	8,73	0,33	Indol-2(3H)-one, 5-bromo-3-(2-quinolinylmethylene)-
180	8,76	0,11	2-BUTOXY-4,6-DI(4-MORPHOLINYL)-1,3,5-TRIAZINE
181	8,82	0,73	Propanedioic acid, (bromomethyl)methyl-, bis[5,6-bis(hydroxyimino)heptyl] ester (CAS)

182	8,89	0,37	5-Hydroxytetraatriacontan-9-one
183	8,90	0,10	5-Isloxazolidinecarboxylic acid, 5-methyl-2-[2,3:5,6-bis-O-(1-methylethylidene)-.alpha.-D-mannofuranosyl]-, methyl ester, (S)- (
184	8,91	0,35	PHOSPHINE, (ETHOXY)DIPHENYL-
185	8,95	0,20	Oxychlordan
186	9,00	0,25	(+)-3-(3-(2H)HYDROXY-BUTYRYL(2H)AMINO-2-(1-2H)PIPERIDONE
187	9,02	0,36	N-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-3-(4-PHENYL-PIPERAZIN-1-YL)-PROPIONAMIDE
188	9,04	0,39	ETHYL 4-[5-(2,4-DICHLOROPHENYL)-1,3,4-OXADIAZOL-2-YL]BENZOATE
189	9,07	0,36	hexachlorobenzene
190	9,09	0,12	1-(4-BROMO-2-FLUORO-PHENYL)-4-THIOPHEN-3-YL-4,6,7,8-TETRAHYDRO-1H,3H-QUINOLINE-2,5-DIONE
191	9,10	0,28	.ALPHA.-D-GLUCOFURANOSE CYCLIC-1,2:3,5-BIS(BUTANEBORONATE)6-O-ACETATE
192	9,13	0,07	Lead[ii] bis(dipropyldithiophosphate)
193	9,14	0,14	Ethylphoshonic acid, fluoroanhydride, 2-ethoxyethyl ester
194	9,16	0,13	8-METHOXY-2-OXO-2H-CHROMENE-3-CARBOXYLIC ACID [2-(5-BROMO-2-METHYL-1H-INDOL-3-YL)-ETHYL]-AMIDE
195	9,18	0,23	2-(3-METHOXYPHENOXY)-N-(5-METHYL-3-ISOXAZOLYL)ACETAMIDE
196	9,20	0,15	Succinic acid, 2-acetyl-2-isopropyl-, diethyl ester
197	9,23	0,42	Benzene, 1,3,5-trichloro-2-(4-nitrophenoxy)- (CAS)
198	9,26	0,51	1,2-Nonadecanediol (CAS)
199	9,30	0,28	(3a.alpha.,8a.alpha.)-8.beta.-hydroxyoctahydro-2H-cyclohepta[b]furan-2-one
200	9,32	0,30	2-METHYL-4,6-CHLOROPHENOL-TRIMETHYL-SILYL-ETHER
201	9,35	0,66	Benzenesulfonamide, 4-amino-N-(2-methoxyphenyl)-
202	9,41	0,32	1,4,10-Trioxa-13-thia-7,16-diazacyclooctadecane-8,12,15-trione
203	9,45	0,42	2-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYLAMINO]-6-HYDROXYMETHYL-TETRAHYDRO-PYRAN-3,4,5-TRIOL
204	9,47	0,50	7-Bromo-2,3-dihydro-5-phenyl-1H-1,4-benzodiazepin-2-thione
205	9,52	1,27	1,3,6,9b-Tetraazaphenalene-4-carbonitrile, 7-bromo-2-(dibromomethyl)-3-[4-(2-FUROYL)-1-PIPERAZINYL]-1-[4-(HEXYLOXY)PHENYL]-2,5-PYRROLIDINEDIONE
206	9,55	0,29	N-(4-BROMO-PHENYL)-3-(O-TOLYLAMINOOXALYL-HYDRAZONO)-BUTYRAMIDE
207	9,58	0,29	
208	9,60	0,33	1,3,4-Oxadiazole, 2-(5-bromo-2-pyridyl)-5-(4-nitrophenyl)-
209	9,64	0,56	ACETIC ACID, 2,3,4-TRICHLORO-6-(N-N-DIETHYLSULFAMOYL)PHENOXY, ETHYL ESTER
210	9,67	0,61	Cholesta-8,14-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- (CAS)
211	9,72	0,42	4-HYDROXY-6-METHYL-3-[2-(3-NITROPHENYL)-2,3-DIHYDROBENZO[B][1,
212	9,74	0,60	[(2-NITRO-PHENYL)-HYDRAZONO]-[4-(2-OXO-2H-CHROMEN-3-YL)-THIAZOL-2-YL]-ACETONITRILE
213	9,78	0,50	3-(O-CHLOROPHENYL)-1-PHENYL-PROPANAL-2-ENE OXIME
214	9,81	0,35	(+)-(2RS,4SR,1'RS)-2-(1'-t-butylidimethylsiloxyethyl)-5,8-dimethoxy-4-methoxymethoxy-1,2,3,4-tetrahydroaphthalen-2-ol
215	9,84	0,45	2-(3',5'-Dimethylpyrazolyl)-3-methoxycarbonyl-1-[N-(p-tolyl)]propionamide
216	9,86	0,32	2-Ethenyl-4,4-dimethylcyclopentane-1-carboxaldehyde Dimethyl Acetal
217	9,91	0,64	Hexadecanoic acid, 1,4-butanediyl ester (CAS)
218	9,96	0,42	Hexadecanoic acid, 16-(trimethylsiloxy)-, methyl ester (CAS)

219	9,99	0,20	(2S,4R,5R)-4-tert-Butyldiphenylsilyloxy-5,6-cyclohexylidenedioxy-1,2-epoxyhexane
220	10,02	0,38	BORINIC ACID, DIETHYL-, [2-(CYCLOHEXYLIMINO)CYCLOOCTYL]PHENYLMETHYL ESTER
221	10,06	0,54	1-Carboxycyclopropane-2-acetic acid(Z),dimethyl ester
222	10,12	0,51	7(S)-10-OXO-4X1-METHYL-7-ISOPROPYL-5E-UNDECEN-4-OLIDE
223	10,17	0,47	7-Bromo-5-(3-bromophenyl)-2,3-dihydro-1H-1,4-benzodiazepin-2-one
224	10,20	0,30	Tetrakis(trimethylsilyl) derivative of .alpha.-Cortol
225	10,24	0,62	N-METHYL-P-CHLOROENZENESULFONAMIDE
226	10,31	0,25	DIOXYLUCIFERIN
227	10,34	0,23	Aspidospermidine-1-acetic acid, 17-hydroxy-16-methoxy-.alpha.-methyl-, methyl ester (CAS)
228	10,37	0,18	Cyclopropanepentadecanoic acid, 2-octadecyl-, methyl ester (CAS)
229	10,38	0,10	(1R,4S,10S)-5,6,7,8,10-Pentachloro-5,8-dihydro-10-methoxy-2-phenyl-5,8-methano-(1H)-[1,2,4]triazolo[1,2-a]pyridazine-1,3(2H)-di
230	10,40	0,39	4-(1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-1-(3-CHLOROPHENYL)-3-(2-METHYLPHENOXY)-2-AZETIDINONE
231	10,45	0,25	7-(CHLORO-DIFLUORO-METHYL)-5-THIOPHEN-2-YL-PYRAZOLO[1,5-A]PYRIMIDINE-2-CARBOXYLIC ACID (4-DIETHYLAMINO-PHENYL)-AMIDE
232	10,47	0,11	2-[7-(4-BROMO-BENZYLIDENE)-3-(4-BROMO-PHENYL)-3,3A,4,5,6,7-HEXAHYDRO-INDAZOL-2-YL]-4-METHYL-THIAZOLE-5-CARBOXYLIC ACID DIMETHYL
233	10,49	0,03	Aspidofractinine-1-carboxaldehyde, 3-oxo-, (2.alpha.,5.alpha.)- (CAS)
234	10,52	0,21	N-(2-METHOXY-PHENYL)-3-[4-[2-(2-METHOXY-PHENYLCARBAMOYL)-ETHYL]-PIPERAZIN-1-YL]-PROPIONAMIDE
235	10,58	0,30	2-[1-(2-Hydroxy-ethyl)-1H-benzoimidazol-2-ylsulfanyl]-acetamide
236	10,59	0,12	Tetrahydro-2,5-bis(3,3,3-trifluoropropyl)-2-(5,5,5-trifluoro-2-trifluoromethylpentyl)furan
237	10,61	0,03	(2,2,4,4,6,16-D6)-3.ALPHA.,17.BETA.-DIHYDROXY-5.BETA.-ANDROSTAN-11-ONE
238	10,64	0,16	3-Oxobutyric acid, 2-(2-oxocycloheptyl)methyl-, ethyl ester
239	10,68	0,15	cis-Dihydrotodomatuic acid
240	10,71	0,31	4(1H)-Isobenzofuranone, hexahydro-3a,7a-dimethyl-, cis-(.-.-) (CAS)
241	10,75	0,32	1-Bromoheptadecane-1-13C
242	10,81	0,51	Ethanone, 1-(4-morpholyl)-2-(2-pyridylthio)-
243	10,85	0,15	1-Tetradecanol (CAS)
244	10,91	0,41	Tin, dichlorobis(2,4-pentanedionato-O,O')-, (OC-6-22)- (CAS)
245	10,94	0,17	1-Phenanthrenecarboxylic acid, 7-ethenyl-1,2,3,4,4a,4b,5,6,7,8,10,10a-dodecahydro-1,4a,7-trimethyl-, methyl ester, [1R-(1.alpha
246	11,03	0,82	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N,N'-diethyl-6-methoxy-N-methyl- (CAS)
247	11,08	0,54	.ALPHA.,.ALPHA.,.ALPHA.-TRIFLUORO-2,6-DINITRO-N-(PROPAN-3-OL)-P-TOLUIDINE
248	11,17	0,80	1-(2,3-Dimethoxybenzyl)pyrrole-2-carboxylic acid diethyl amide
249	11,19	0,17	2H-Pyran-5-carboxylic acid, 4,6-dimethyl-2-oxo-, ethyl ester (CAS)
250	11,24	0,32	1,5-Naphthalenediol, decahydro- (CAS)
251	11,26	0,29	2-(2-Vinyloxy-ethoxy)-cyclohexanol
252	11,28	0,33	Gibberellin A3 (CAS)
253	11,31	0,09	Loba-8,10,13(15)-triene-17,18-diol - 18-Acetate
254	11,32	0,28	3-(Acetylhydrazono)-N-mesitylbutyramide
255	11,35	0,16	Vitamin A alcohol

256	11,38	0,31	1,25-DIHYDROXY VITAMIN D2
257	11,41	0,17	2-(6-BUTYLAMINO-PURIN-9-YL)-5-HYDROXYMETHYL-TETRAHYDRO-FURAN-3,4-DIOL
258	11,44	0,27	(R*,R*)-2-(1-(2,5-Dimethoxyphenyl)-1-methoxyethyl)-2-hydroxy-cyclobutanone
259	11,47	0,16	17.BETA.-MARSDENINE
260	11,50	0,10	10-Bromo-2,7-dioxatricyclo[4.3.1.0(3,8)]decane
261	11,55	0,05	1-Propanone, 1-cyclopropyl-, o-methyloxime (CAS)
262	11,57	0,15	Levallorphan
263	11,60	0,21	5Alpha-cholestane-3beta,5,6beta-triol 3,6-diacetate
264	11,61	0,17	LOBARIC ACID dervative
265	11,64	0,17	3-hydroxy-5-octylthiophenyl-4-ethanoate
266	11,65	0,11	1-(4-tert-Butyl)phenyl-2-methyl-2,5-pentanediol
267	11,68	0,22	3-Methylriboflavin tetraacetate
268	11,70	0,25	9-Borabicyclo[3.3.1]nonane, 9-methyl-
269	11,74	0,46	Thiophene, 3-methyl-5-(2-methylhexyl)-2-tridecyl-
270	11,75	0,11	1R(*),2R(*),5Z,7S(*),8(17)Z,10R(*),11R(*),12S(*),14S(*)-14-Acetoxy-11,12-epoxy-epoxy-18-oxobriara-5,8(17)-dien-2-yl butanoate
271	11,76	0,24	Trimethylsilyl,trifluoro derivative of deuterio-Glu-leu
272	11,81	0,53	Decanoic acid, 5-ethyl-3,5,9-trimethyl-, methyl ester (CAS)
273	11,84	0,27	Azacyclodecan-5-ol
274	11,91	0,61	9,19-Cyclolanost-23-ene-3,25-diol, 3-acetate, (3.beta.,23E)- (CAS)
275	11,93	0,08	3-(4,6-DI-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1,2,3,4,5,6-HEXAHYDRO-1,5-METHANO-PYRIDO[1,2-A][1,5]DIAZOCIN-8-ONE
276	11,98	0,35	Decaborane(14) (CAS)
277	12,02	0,13	1-Phenazinecarboxylic acid, 6-[1-[(1-oxohexadecyl)oxy]ethyl]-
278	12,06	0,45	3-(tert-Butoxycarbonyl)-5-methyl-4,5-dihydroimidazo[1,5-a]benzo[f][1,4]diazepin-6-one
279	12,14	0,17	{(2R,3S,3aS)-2-(3',4'-Dimethoxyphenyl)-3,3a-dihydro-5-methoxy-3-methyl-3a-(2'-propenyl)-2-benzofuran-6(2H)-one
280	12,17	0,51	Aldrin-transdiol
281	12,22	0,43	METHYL D5-SORBATE
282	12,26	0,35	picolinyl dimethylsilyl cis-octadec-6-enol
283	12,30	0,36	7-hydroxy-2-methyl-6,11-dioxo-6,11-dihydroanthra[1,2-b]furan-8-carbaldehyde
284	12,33	0,34	1-(3-Cyclopentyloxy-4-methoxy-phenyl)-3-(3,5-difluoro-phenyl)-urea
285	12,40	0,62	METHYL 10-OXOUNDECANOATE-4,4,7,7-D4
286	12,44	0,38	9-Octadecenoic acid (Z)-, 3-[(1-oxohexadecyl)oxy]-2-[(1-oxooctadecyl)oxy]propyl ester (CAS)
287	12,47	0,34	5-Nonanone, (2,4-dinitrophenyl)hydrazone (CAS)
288	12,50	0,13	pentakis(Dimethylsilyl)-dioxide
289	12,52	0,10	Benzenepropanoic acid, 3-methoxy-.alpha.,4-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, trimethylsilyl ester (CAS)
290	12,57	0,30	1-(2-NITRO-4-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL)-PIPERIDINE-4-CARBOXYLIC ACID [2-(2-METHYL-PIPERIDIN-1-YL)-5-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL]-AMIDE
291	12,59	0,25	5H-Dibenzo[a,d]cycloheptene-2,3,7,8-tetrol, 5-[(methylamino)methyl]- (CAS)
292	12,62	0,50	N-(2-Hydroxy-4-octanamidophenyl)-3,5-bis(1,1-dimethylpropyl)phenoxyacetamide
293	12,64	0,34	3-BROMO-6-(4-MORPHOLINYL)[1,2,4]TRIAZOLO[4,3-B]PYRIDAZINE

294	12,67	0,34	1(2H)-Phenanthrenone, 7-(acetyloxy)dodecahydro-8a-hydroxy-2,4b-dimethyl-, [2S-(2.alpha.,4a.alpha.,4b.beta.,7.beta.,8a.alpha.,10
295	12,68	0,22	Cinobufagin
296	12,69	0,16	5-phenyl-4-(p-bromophenyl)-3-[N-(.alpha.-benzoyl-benzyl)-N-p-tolyl-aminocarbonyl]-1,2,4-triazole
297	12,70	0,34	1,3,5-Triazine-2,4,6-triamine, N,N-diethyl-N'-(1-methylethyl)-N''-[4-(phenylazo)phenyl]-
298	12,72	0,13	methyl 1.beta.-hydroxy-7a.beta.-methyl-5-oxo-2,3,3a.alpha.,4,5,6,7,7a-octahydro-1H-indene-4.alpha.-carboxylate
299	12,73	0,14	GIBBERELLIN A3 DERIVATIVE
300	12,75	0,49	2,2-Dimethylcyclopropanecarbonic acid,cyanomethyl ester
301	12,79	0,32	Cyclopropaneoctanoic acid, 2-[(2-pentylcyclopropyl)methyl]-, methyl ester, trans,trans- (CAS)
302	12,83	0,32	Acetamide, N-[4-(2-benzothiazolyl)aminosulfonylphenyl]-
303	12,86	0,15	decanedioic acid bis(2,2-dideuteropentyl) ester
304	12,89	0,11	2-(9-OXO-9,10-DIHYDROANTHRACEN-10-YLIDENEMETHYL)-5-(9-OXO-9,10-DIHYDROANTHRACEN-10-METHYL)FURAN
305	12,93	0,03	Propenoic acid, 3-(3-cyanophenyl)-2-(diethoxyphosphinyl)-, ethyl ester
306	12,95	0,12	Ibogamine, (2.alpha.,5.beta.,6.alpha.,18.beta.)- (CAS)
307	12,98	0,03	1-Benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene-6-methyl-1H,5H-furo[3,4-c]pyridine-3,4-dione
308	12,99	0,03	5(2'CHLOROPHENYL)-7-CHLORO-1,3-DIHYDRO-1,4-BENZODIAZEPIN-2H-2ACET
309	13,02	0,20	3,5,9-Trioxa-4-phosphapentacosan-1-aminium, 4-hydroxy-N,N,N-trimethyl-10-oxo-7-[(1-oxohexadecyl)oxy]-, hydroxide, inner salt, 4
310	13,08	0,39	2,4,6,8,9-Pentathiatricyclo[3.3.1.1(3,7)]decane-1-propanenitrile, 3,5,7-trimethyl- (CAS)
311	13,15	0,80	9-Octadecenoic acid, 2-(octadecyloxy)ethyl ester (CAS)

5. *B. subtilis* BB.B4

Peak	R. Time	Area %	Name
1	2,54	0,83	2-hydroxymethyl-3-methyl-oxirane
2	2,59	0,32	1,2-bis{[(3'-(Methylthio)-2'-phenyl-3'-thioxoprop-1'-enyl)amino]}-ethane
3	2,62	0,46	3-[5-(2-NITRO-PHENYL)-1,3-DIOXO-1,3-DIHYDRO-ISOINDOL-2-YL]-BENZOIC ACID
4	2,65	0,36	3-Isoxazolecarboperoxoic acid, 4,5-dihydro-5-phenyl-, 1,1-dimethylethyl ester (CAS)
5	2,69	1	5-CYANO-6-(ETHYLSULFANYL)-4-(4-HYDROXYPHENYL)-2-METHYL-N-PHENYL-1,4-DIHYDRO-3-PYRIDINECARBOXAMIDE
6	2,77	1,34	TRICYCLO[4.1.0.0(2,4)]HEPTANE, 3,3,7,7-TETRAMETHYL-5-PALLADA-, BIS-D-(TRIMETHYLPHOSPHAN)
7	2,84	0,28	Thiophene-2,3-dicarboxylic acid, 4-(2,4-dichlorophenylsulfonylamino)-, dimethyl ester
8	2,87	0,48	3-(4-CHLORO-BENZENESULFONYLAMINO)-3-(4-ETHOXY-PHENYL)-PROPIONIC ACID
9	2,90	0,26	Acetic acid, 8-acetoxy-6-benzenesulfonyl-2-thia-6-aza-adamantan-4-yl ester
10	2,93	0,22	N-(2,4-DICHLORO-BENZYL)-4-METHYL-N-(5-METHYL-[1,3,4]THIADIAZOL-2-YL)-BENZENESULFONAMIDE
11	2,94	0,22	2-PROPOXYETHYL 4-(2,4-DIMETHOXYPHENYL)-2-METHYL-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-3-QUINOLINECARBOXYLATE
12	3,00	0,69	2-Chloro-benzoic acid N'-[2-(3-oxo-3,4-dihydro-2H-benzo[1,4]thiazin-2-yl)-acetyl]-hydrazide
13	3,03	0,23	6-Iodo-2-methylquinazolin-4(3H)-one
14	3,07	0,6	Quinazoline-2-carboxaldehyde, 6-chloro-4-(2-chlorophenyl)-
15	3,11	0,27	Acetic acid, 2-(4-bromo-2-cyanophenoxy)-, ethyl ester
16	3,20	0,93	N-[4-(CHLORO-DIFLUORO-METHOXY)-PHENYL]-2-[7-(2-ETHYL-HEXYL)-1,3-DIMETHYL-2,6-DIOXO-2,3,6,7-TETRAHYDRO-1H-PURIN-8-YLSULFANYL]-AC
17	3,21	0,12	3.BETA.,7.ALPHA.-DIHYDROXY-5.ALPHA.-ANDROSTAN-17-ONE TMS
18	3,24	0,05	O-BUTYL-O-(2,4-DICHLOROPHENYL)SEC-BUTYLPHOSPHORAMIDOTHIOATE
19	3,26	0,2	1-{2'(E)-(Cyclohexen-1"-yl)ethenyl}pyrrolidine
20	3,31	0,15	Rescinamine
21	3,34	0,15	4-(3',4'-Dichlorobenzoyl)-1-phenyl-1H-1,2,3-triazole
22	3,37	0,11	11-METHOXY-MACUSINE A
23	3,39	0,27	[(4-METHOXY-NAPHTHALENE-1-SULFONYL)-METHYL-AMINO]-ACETIC ACID
24	3,45	0,53	ACETIC ACID, N'-[4,6-DI(4-MORPHOLINYL)-1,3,5-TRIAZIN-2-YL]-N'-METHYLHYDRAZIDE
25	3,50	0,24	9.ALPHA.,12.ALPHA.-D2-5.ALPHA.-PREGNAN-11-ONE
26	3,52	0,17	3-Methylriboflavin tetraacetate
27	3,54	0,31	Silanol, trimethyl-, 2-aminobenzoate (CAS)
28	3,57	0,3	Isopropylbis(3-phenylbutyl)amine
29	3,61	0,13	N-(4,6-Dimethyl-2-pyrimidinyl)-4-[2,2,2-trifluoro-1-isovaleramido-1-(trifluoromethyl)ethylamino]benzenesulfonamide
30	3,65	0,35	6-chlor-1,5-dihydro-3,7-dihydroxy-3-methylimidazo[2,1-b]chinazolin-2(3H)-on
31	3,68	0,48	Eicosanoic acid, 9-octadecenyl ester, (Z)- (CAS)
32	3,73	0,44	1-(Adamanthyl-1)-2-(1-chloro-2-phenylcyclopropyl)acethylene
33	3,80	0,69	(5R)-12',12'-Ethylenedioxy-8-hydroxy-12'-apo-.kappa.-caroten-6-one

34	3,82	0,33	1-Methoxy-3-(2-trimethylsilyloxyethyl)octane
35	3,86	0,17	TAB CYSTINE
36	3,88	0,43	SILANE, METHYLTRIS[[5-METHYL-2-(1-METHYLETHYL)CYCLOHEXYL]OXY]-
37	3,92	0,08	DICHLORO-CYCLOOCTATETRAENHAFNIUM
38	3,93	0,09	.ZETA.-PYRROMYCINONE
39	3,99	0,68	hydrocinnamyl isoferulate-TMS-derivative
40	4,03	0,27	BIS(3,5-DICHLORO-2,6-DIMETHYL-4-PYRIDYL)SULFIDE
41	4,06	0,23	3-(2-CHLORO-PHENYL)-2-(4-PHENYL-THIAZOL-2-YL)-ALLYLAMINE
42	4,08	0,19	4-[2-(1R*,2S*)-(2-Hydroxycyclohexylmethyl)allyl]tetrahydro-2H-pyran-4-ol
43	4,10	0,24	1-n-Hexadecyloxy-1-methyl-1-silacyclobutane
44	4,13	0,26	Pyrimidin-4(3H)-one, 2-amino-6-hydroxy-5-nitro-
45	4,17	0,16	BIS-[1,4-ETHANO-3-(TRIFLUORMETHYLHYDROXYMETHYLEN)-1,2,3,4-
46	4,19	0,22	[5-Methoxy-2-(naphthalen-2-ylazo)-phenyl]-methanol
47	4,21	0,2	BENZOIC ACID, 4-[[1-OXO-3-(1H-1,2,3,4-TETRAZOL-1-YL)PROPYL]AMINO]-, METHYL ESTER
48	4,26	0,32	1,8-Octanediamine
49	4,28	0,18	2,4-Bis(Methylthio)-6-chloro-1,3,5-triazine (CAS)
50	4,40	1,21	2-AMINO-1-(2-CYANO-PHENYL)-7,7-DIMETHYL-5-OXO-4-THIOPHEN-3-YL-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBONITRILE
51	4,41	0,06	19-OH-16,16-DIME F2A ME 4TMS
52	4,44	0,23	p-Dihydroartemisininoxymethylbenzoic acid
53	4,47	0,42	4-[3-(4-BROMO-PHENYL)-5-(2,5-DIMETHOXY-PHENYL)-4,5-DIHYDRO-PYRAZOL-1-YL]-4-OXO-BUTYRIC ACID
54	4,49	0,1	3-Oxanonane, 2,2-diphenyl-
55	4,50	0,28	5.BETA.,3.ALPHA.-FORMOXYANDROSTAN-11.BETA.-OL-17-ONE
56	4,58	0,29	1-Dibenzofurancarboxylic acid, 4a,9b-dihydro-4a-hydroperoxy-4,9b-dimethyl-, methyl ester (CAS)
57	4,60	0,06	Fluorotebuquine
58	4,65	0,41	Phenol, 2-(1-methylpropyl)-4,6-dinitro-, acetate
59	4,68	0,23	7.alpha.-Methyl-3,16.alpha.-bis[[[(trifluoromethyl)sulfonyl]oxy]-3,5(6)-estradien-17-one
60	4,71	0,27	Pyridine-3-carboxylic acid, 2,4,6-trichloro-5-nitro-
61	4,76	0,44	DI(2,2-DIMETHYLTHIO-N-(2-HYDROXYBENZYLIDENE)ETHYLAMINE)ZINC
62	4,78	0,2	1-(3-HYDROXY-10,13-DIMETHYL-16-NITROMETHYL-2,3,4,7,8,9,10,11,12,13,14,15,16,17-TETRADECAHYDRO-1H-CYCLOPENTA[A]PHENANTHREN-17-YL
63	4,82	0,44	10-BROMO-19,20-DIHYDROVOACHALOTINE OXINDOLE
64	4,85	0,42	Methyl (+-)-(3aR*,4S*,11bR*)-3-(3-Iodoallyl)-2,3,3a,4,5,7-hexahydro-4-ethyl-4-(phenylselenyl)-1H-pyrrolo[2,3-d]carbazole-6-carb
65	4,90	0,25	3,5,6-Trichloro-4-(4-fluoro-phenylamino)-pyridine-2-carboxylic acid ethyl ester
66	4,94	0,08	1,1'-(4-Methyl-1,3-phenylene)bis[3-(5-isopropyl-1,3,4-thiadiazol-2-yl)urea]
67	4,98	0,28	2-(4-CHLORO-PHENYL)-1-CYCLOHEXYL-5,7-DIMETHYL-1H,7H-1,3A,5,7,8-PENTAAZA-CYCLOPENTA[A]INDENE-4,6-DIONE
68	5,00	0,09	Benzo[c]cinnoline, 4-methoxy- (CAS)
69	5,01	0,2	3-(4-methoxybenzoyl)-carbazole
70	5,04	0,17	2-[4-AMINO-5-(4-BROMO-PHENYL)-4H-[1,2,4]TRIAZOL-3-

			YLSULFANYL]-N-(4-METHOXY-PHENYL)-ACETAMIDE
71	5,07	0,42	BREGENIN
72	5,09	0,57	(4-Amino-6-oxo-1,6-dihydro-pyrimidin-2-ylsulfanyl)-acetic acid 1,7,7-trimethyl-bicyclo[2.2.1]hept-2-yl ester
73	5,15	0,21	2-(4-ALLYL-5-THIOPHEN-2-YL-4H-[1,2,4]TRIAZOL-3-YLSULFANYL)-N-(3-FLUORO-4-METHYL-PHENYL)-ACETAMIDE
74	5,19	0,75	x - octyl - phenol
75	5,22	0,6	9,12,15-Octadecatrienoic acid, 2,3-bis[(trimethylsilyl)oxy]propyl ester, (Z,Z,Z)- (CAS)
76	5,27	1,03	Phenol, 2-(4-bromo-3-chlorophenyliminomethyl)-
77	5,37	0,49	METHYL-3,23-O-ISOPROPYLIDENE-ASIATATE
78	5,41	0,39	Naphthalene, 2,4,5-trichloro-1-methoxy- (CAS)
79	5,45	0,48	Quinuclidine, 3,3-bis(4-aminophenyl)-
80	5,46	0,15	2-(1-ETHOXYCARBONYL-2,2,2-TRIFLUORO-1-PENTANOYLAMINO-ETHYLAMINO)-4-ETHYL-5-METHYL-THIOPHENE-3-CARBOXYLIC ACID METHYL ESTER
81	5,49	0,34	1-BENZYL-6-BROMO-5-HYDROXY-2-PYRROLIDIN-1-YLMETHYL-1H-INDOLE-3-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
82	5,50	0,13	2-METHYL-4-(5-METHYL-FURAN-2-YL)-5-OXO-1,4,5,6,7,8-HEXAHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID 2-PHENOXY-ETHYL ESTER
83	5,54	0,61	5-[(2,5-DIMETHOXY-PHENYLAMINO)-METHYLENE]-2-THIOXO-1-O-TOLYL-DIHYDRO-PYRIMIDINE-4,6-DIONE
84	5,57	0,38	2-Piperidinone, 1-(1-methylethyl)-3-[(1-methylethyl)amino]- (CAS)
85	5,63	0,58	2-diphenylmethyliden-1,3-dithiol-4-carbonsaure-ethylester
86	5,65	0,28	2-(4-AMINO-5-METHYL-4H-[1,2,4]TRIAZOL-3-YLSULFANYL)-N-(4-FLUORO-PHENYL)-ACETAMIDE
87	5,67	0,32	Tetrazole, 1-(4-biphenyl)-5-[2-(1-piperidyl)ethenyl]-
88	5,70	0,1	1,2-Selenagermolane, 2,2-dibutyl- (CAS)
89	5,72	0,51	TRIMETHYLSILY DERIVATIVE OF N-N-PROPYLNORAPOMORPHINE
90	5,75	0,16	Dithiocarbonic acid, O-ethyl ester, methylene-S(IV)-trifluoromethyl ester
91	5,76	0,12	Staxanthin
92	5,78	0,32	NICKEL, [(1,4,5-ETA.)-4-CYCLOOCTEN-1-YL](2,4-PENTANEDIONATO-O,O')-
93	5,80	0,11	7,7,9,9-Tetrakis-hydroxymethyl-1,4-dioxa-spiro[4.5]decan-8-ol
94	5,80	0,11	Anodendroside E 2, monoacetate (CAS)
95	5,83	0,36	2endo,3exo-Bis(dichloromethyl)-5exo,6exo- and -5endo,6endo-epoxybicyclo[2.2.2]octanes
96	5,85	0,35	4-(3-CHLORO-4-MORPHOLIN-4-YL-PHENYL)-1-(4-CHLORO-PHENYL)-5-(3,4-DIMETHOXY-PHENYL)-4,5-DIHYDRO-1H-[1,2,4]TRIAZOLE-3-CARBOXYLIC A
97	5,86	0,15	Methane-boronate-acetate derivative of 1.alpha.,7-Dihydroxy-3-deuterohexahydro-cannibinol-7-oic acid
98	5,87	0,17	2-(2-ACETOXY-1-(3',4',5'-TRIACETOXY-2-ACETOXYCARBONYLPYRAN-6-YLOXY)PHEN-4-YL-5,7-DIHYDROXY-3,6-DIMETHYLBENZO[B]PYRAN OR SPINATI
99	5,88	0,59	.beta.,.beta.-Carotene, 3'-(acetyloxy)-6',7'-didehydro-5,6-epoxy-5,5',6,6',7,8-hexahydro-3,5'-dihydroxy-8-oxo-, (3S,3'S,5R,5'R,
100	5,94	0,84	1-[3,4-Dichlorophenyl]-3-[4-[[3-[3-hydroxypiperidino]propyl]amino]-6-methyl-2-pyrimidinyl]guanidine
101	6,00	0,4	Butanamide, N-(aminocarbonyl)-2-bromo-3-methyl- (CAS)
102	6,03	0,42	2(1H)-Pyridinone, 3,5,6-trichloro- (CAS)
103	6,09	0,76	3-[7-METHOXY-3-(4-NITRO-PHENYL)-3,3A,4,5-TETRAHYDRO-BENZO[G]INDAZOL-2-YL]-BUT-2-ENOIC ACID ETHYL ESTER

104	6,12	0,35	Decanal (CAS)
105	6,16	0,47	Bis(tributyltin)
106	6,18	0,14	2,2,2-Trichloroethyl 7-methoxycarbonylamino-3-phenylthiomethyl-3-cephem-4-carboxylate 1,1-dioxide
107	6,20	0,38	5.EPSILON.-METHOXYCARBONYL-3,3,5-TRIMETHYLSISOXAZOLIDINE
108	6,23	0,14	CIS-1,3-DIDEUTEROMETHOXYCYCLOPENTANE
109	6,26	0,63	Bromazepam
110	6,32	0,77	5-O-.beta.-Galactofuranosyl-D-galactitol - nonakis(trimethylsilyl) derivative
111	6,37	0,87	2,7-DIMETHYL-3,5-DIMETHYLMERCAPTO-1,2,4-TRIAZEPINE
112	6,45	0,31	2,8-DIAZA-3,5,10-TRITHIATRICYCLO[5.4.1.0[4.12]]DODECA-1,4(12),6-TRIEN-6-CARBOXYLIC ACID, 9-OXO-, METHYL ESTER
113	6,46	0,34	6-(p-Bromophenyl)-3-(2'-furanyl)-7H-1,2,4-triazolo[3,4-b]-(1,3,4)-thiadiazine
114	6,49	0,31	.alpha.,3'-Bicinnamaldehyde, 4,4'-dihydroxy-3,5'-dimethoxy- (CAS)
115	6,51	0,79	3-PYRIDINECARBONITRILE, 4,5,6-TRIMETHYL-2-[[2-(4-METHYL-1-PIPERIDINYL)-2-OXOETHYL]THIO]-
116	6,58	0,45	Benzene, 1,2-bis(chloromethyl)-3,6-dimethoxy-4,5-dimethyl-
117	6,63	0,31	2H-1,3-Thiazino[3,2-a]benzimidazole, 3,4-dihydro-3-bromo-
118	6,65	0,23	(4-18O)PENTAACETYLGLUCOSE
119	6,68	0,4	4-Bromo-6-chloro-2-benzoxazolinone
120	6,74	0,2	N-HEXYL-2-{2-[(HEXYL-PENTYL-CARBAMOYL)-METHOXY]-ETHOXY}-N-PENTYL-ACETAMIDE
121	6,75	0,08	Benzenamine, 2,3,5,6-tetrachloro-4-methoxy- (CAS)
122	6,77	0,21	Methyl 2-methyl-2-bromomethyl-3-(hexylthio)-3-oxopropanoate
123	6,79	0,18	11-Nitromethylene-2,7-dimethoxy-11H-benzofuro[3,2-b][1]benzopyran
124	6,81	0,26	INDENO[1,2-B]QUINOLINE,11-CYCLOHEXYLIMINO-3-METHYL-
125	6,84	0,24	Cyprazine hydroxy analog
126	6,85	0,21	3-Hydroxyholosta-7,25-dien-16-one
127	6,88	0,18	1,3,4,5-tetra-O-acetyl-D-fructopyranose
128	6,91	0,26	Cariocal
129	6,93	0,3	1-(p-chlorophenyl)-5-[2-(1-piperidinyl)aminovinyl]-1H-tetrazole
130	6,98	0,47	(+)-cis-{7-[(6-chloro-9H-purin-9-yl)methyl]-1,4-diphenyl-6,7-dihydro-5H-cyclopenta[d]pyridazin-5-yl}methanol
131	7,01	0,17	ZINC MONOCHLORIDE OCTAMETHYL PORPHINE COMPLEX
132	7,02	0,09	10-HYDROXY-3,14-DIHYDRODECUSSINE
133	7,05	0,36	THE ETHYL ESTER OF 3-CYCLOHEXYL PROPANOIC ACID
134	7,07	0,1	ent-13-Acetoxy-10.beta,15.alpha.-dihydroxy-3.alpha.-methoxymethoxy-16-oxo-17,20-dinor-8.beta.,13.beta.-gibberellane-7,19-dioic
135	7,08	0,36	2-[(Dicyclohexylcarbamoyl)-methyl]-malonic acid, diethyl ester
136	7,15	0,45	Trisiloxane, 1,3-dichloro-1,1,3,5,5,5-hexamethyl-
137	7,18	0,38	METHYL [1,4,5,6,7,7-HEXACHLORO-2-(METHOXYCARBONYL)BICYCLO[2.2.1]HEPT-5-EN-3-YL]ACETATE
138	7,19	0,29	1-Ethyl-1-hydridotetrachlorocyclotriphosphazene
139	7,23	0,59	Pregn-4-ene-3,6-dione (CAS)
140	7,28	0,12	4-(N'-t-Butylureido)-5-(6-methoxy-2-naphthyl)-5-methyl-2(5H)-furanone
141	7,29	0,28	Iron, [.mu.-[[1,2-bis(trifluoromethyl)-1,2-ethenediyl]bis[(trifluoromethyl)phosphinidene]-P,P':P,P']decacarbonyltri-
142	7,33	0,19	PHENYL ESTER OF 5-ACETAMIDO-2-ETHOXYACETIC ACID

143	7,37	0,42	(2S,3E,5Z)-2-[(t-Butoxycarbonyl)amino]-3,5,13-tetradecatriene
144	7,39	0,4	1-(4-AMINO-FURAZAN-3-YL)-5-(4,6-DIMETHYL-PYRIMIDIN-2-YLSULFANYLMETHYL)-1H-[1,2,3]TRIAZOLE-4-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
145	7,45	0,17	1,3,3,6,10-PENTAMETHYL-8-(2,5,5-TRIMETHYL-4,5-DIHYDRO-3H-PYRROL-3-YLIDENE)-2-AZASPIRO[4.5]DECA-1,6,9-TRIENE
146	7,48	0,23	RANITIDINE (DEP)
147	7,52	0,36	3.alpha.,11.alpha.-Diaminopregnane
148	7,57	0,59	5'-(Dimethylamino)-3',4'-dihydro-2'-oxospiro[cyclopentane-1,4'-[2H]imidazolium]-trifluoroacetamidate
149	7,62	0,41	2,6-Dimethyl-9-(2-hydroxypropyl)bicyclo[4.4.0]dec-3-en-2-ol
150	7,63	0,24	Trolen
151	7,70	0,64	Methyl 8-oxooctanoate
152	7,75	0,47	8-Heptadecanol, 8-methyl- (CAS)
153	7,79	0,08	3-ACETYL-6-METHYL-2-(4-MORPHOLINYLAMINO)-4H-PYRAN-4-ONE
154	7,82	0,25	3,3,3-TRIFLUORO-2-[3-(4-TRIFLUOROMETHOXY-PHENYL)-UREIDO]-2-(3-TRIFLUOROMETHYL-PHENYLAMINO)-PROPIONIC ACID METHYL ESTER
155	7,86	0,46	Nickel(II) bis(N,N-dimethyldithiocarbamate)
156	7,89	0,57	PROPANOIC ACID, 2-METHYL-2-[[[2-(2-THIENYL)ETHYL]AMINO]CARBONYL]AMINO]OXY]-, 1,1-DIMETHYLETHYL ESTER
157	7,91	0,12	BICYCLO[3.2.1]OCTANE-2-CARBOXYLIC ACID, 4-BROMO-3-CHLORO-7-OXO-6-OXA-, ETHYL ESTER
158	7,93	0,28	2,7-DIAMINO-9,10-PHENANTHRENE-1,10-DIONE
159	7,95	0,19	3-(tert-Butoxycarbonyl)-7-bromo-4,5-trimethylene-4,5-dihydroimidazo[1,5-a]benzo[f][1,4]diazepin-6-one
160	7,98	0,33	(-)-cis-3-(3,5-Dinitrobenzoyloxy)-trans-p-menthane
161	8,01	0,87	(Z)-2-P-CHLOROPHENACYLIDENE-5-P-CHLOROPHENYL-3(2H)-FURANONE
162	8,06	0,14	Zinc, bis(2-butyl-8-quinolinolato-N1,O8)-, (T-4)- (CAS)
163	8,08	0,42	Coroglaucigenin
164	8,14	0,79	L-Lysine, N6-(1-oxodecyl)-N2-[N-[N-(1-oxodecyl)-L-alanyl]glycyl]-L-leucyl]-, methyl ester (CAS)
165	8,19	0,8	LSD
166	8,23	0,38	2-{[4-CYANO-3-({2-OXO-2-[4-(TRIFLUOROMETHYL)ANILINO]ETHYL}SULFANYL)-5-ISOTHIAZOLYL]SULFANYL}-N-[4-(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]ACETA
167	8,27	0,43	3.alpha.-Methoxy-5.alpha.-androstane-17-methoxime
168	8,30	0,41	.beta.-D-Mannopyranose, 2,4,6-tri-O-methyl-, diacetate (CAS)
169	8,34	0,45	Methyl tanshinonate
170	8,38	0,27	4-[[4-(4-BROMO-PHENYL)-THIAZOL-2-YL]-METHYL-AMINO]-BUTYRIC ACID
171	8,40	0,55	Benzenamine, 2-methyl-3,5-dinitro- (CAS)
172	8,43	0,21	3-(Cyclohexylenemethyl)-3-pentanol
173	8,47	0,87	Tricarbonyl-2,3-bis(trimethylsilyl)-2,3-dicarba-1-osmaheptaborane(6)
174	8,50	0,12	15,21-Dimethyl-1,4,7,10,18-pentaoxa-15,21-diazacyclopentacosane-11,14,22,25-tetrone
175	8,51	0,1	Pentylamine, N-ethyl-N-nitroso- (CAS)
176	8,52	0,11	Methionine, 2-methyl-
177	8,53	0,09	diethyl octanedioate

178	8,56	0,27	1-(1'-allyl-3'-methylindol-2'-yl)ethanone
179	8,58	0,18	N-(3,4-DIMETHYL-PHENYL)-N-[4-[1-(4-ETHOXY-PHENYL)-ETHYLIDENE-HYDRAZINOCARBONYL]-BENZYL]-METHANESULFONAMIDE
180	8,66	0,82	1H-ISOINDOLE-1,3(2H)-DIONE, 2-[4-[4,4-DIMETHYL-2-(1-NAPHTHALENYLAMINO)-6-OXO-1-CYCLOHEXENYL]-4-OXOBUTYL]-
181	8,70	0,3	2-(3,5-Dimethyl-1-pyrazolyl)succinic acid
182	8,73	0,37	N-Nitroso glycocholic acid
183	8,76	0,14	Pyrazolo[5,1-c]-as-triazin-4-ol, 6-acetyl-4-(bromomethyl)-4,6-dihydro-3-methyl- (CAS)
184	8,79	0,31	3-[7-Chloro-3,4,9,10-tetrahydro-10-hydroxy-3-[4-[trifluoromethyl]-9(2H,10H)-oxo-1-acridinelidene)amino]-1-[(3,4-dimethoxyphenyl
185	8,83	0,52	3.alpha.,7.alpha.,11.beta.,15.beta.-Tetrahydroxy-(ent)-Kaurane
186	8,87	0,14	4'-(4-Morpholino-1,8-naphthalimido)morpholinophenone
187	8,88	0,1	6.beta.,7.beta.-Dihydroxyroyleanone
188	8,94	0,49	Spiro[9H-fluorene-9,2'(3'H)-thiophen]-4-amine, 4',5'-dihydro-N,N,3'-trimethyl-, 1',1'-dioxide (CAS)
189	8,97	0,26	Cinerin II
190	9,00	0,23	Pregnane-3,11,17,20-tetrol, cyclic 17,20-[(1,1-dimethylethyl)boronate], (3.alpha.,5.beta.,11.beta.,20R)- (CAS)
191	9,04	0,3	5-BROMO-1-PHENYL-1,5,6,7-TETRAHYDRO-4H-INDAZOL-4-ONE
192	9,07	0,12	5,12-Dihydro-6,13-dimethylcarbazolo[3,2-b]carbazole
193	9,10	0,31	Tetramethyl 4,5-Dimethyl-1,2,3,6,7,8-hexahydrobenzo[a]benzo[3',4']cyclohepta[5,6]benzo[c]cycloheptene-2,2,7,7-tetracarboxylate
194	9,12	0,05	4,5,6,7-Tetraacetoxydecyl isothiocyanate
195	9,13	0,09	1-O-TRIMETHYLSILYL-2,3,4,6-TETRA-O-ACETYL-ALPHA-D-GLUCOPYRANOSIDE
196	9,14	0,05	BENZOIC ACID, 4-[5-(4-BROMOPHENYL)-3-[[4-(ETHOXYCARBONYL)PHENYL]AMINO]-2,5-DIHYDRO-2-OXO-1H-PYRROL-1-YL]-, ETHYL ESTER
197	9,16	0,24	25,26-dihydrocyclootochilol
198	9,20	0,42	[(2-NITRO-PHENYL)-HYDRAZONO]-[4-(2-OXO-2H-CHROMEN-3-YL)-THIAZOL-2-YL]-ACETONITRILE
199	9,25	0,67	14.beta.-Hydroxy-13.alpha.-methyleneoxy-7,8-dimethoxy-15.beta.(3,4,5-trimethoxybenzoxy)alloberban
200	9,34	0,58	Benzyl 5-nitro-2,12-dioxocyclododecane-1-carboxylate
201	9,37	0,2	Pyridine, 1-acetyl-1,2,3,4-tetrahydro-5-(2-piperidinyl)- (CAS)
202	9,38	0,04	2,3',4,6-Tetramethyldiphenylsulphone
203	9,42	0,15	(4-Bromo-phenyl)-[4-(2-methyl-thiazol-4-ylmethyl)-piperazin-1-yl]-methanone
204	9,44	0,1	1,3,7-Trioxa-spiro[5,5]undecane
205	9,45	0,09	2-(1-Hydroxycyclohexylmethyl)-2'-sulphanylmethyl-1,1'-binaphthyl
206	9,46	0,07	Ethyl E-5-carbethoxy-2,6-heptadienoate
207	9,48	0,35	Benzenamine, 2,3,4,5,6-pentachloro- (CAS)
208	9,52	0,25	3-(2,6-DICHLORO-PHENYL)-6-PIPERIDIN-1-YL-[1,2,4]TRIAZOLO[4,3-B]PYRIDAZINE
209	9,57	0,46	4-Phenyl-2,4,6-triazatricyclo[5.4.2.0(2,6)]tridec-12-ene-3,5-dione
210	9,64	0,39	2-Naphthalenemethanol, 1-(dimethylamino)-1,2,3,4,4a,5,6,8a-octahydro-.alpha.,.alpha.,4a,8a-tetramethyl- (CAS)
211	9,72	0,3	Octadec - en - one
212	9,77	0,22	O,O-DIETHYL-O-(2,3-DICHLORO-4-THIOCYANATO PHENYL) PHOSPHATE

213	9,78	0,08	3-(4-BROMO-PHENYLCARBAMOYL)-2-(2-O-TOLYLOXY-ACETYLAMINO)-4,7-DIHYDRO-5H-THIENO[2,3-C]PYRIDINE-6-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
214	9,79	0,09	17BETA-ACETOXY-5ALPHA-ANDROSTANE-3,6-DIONE
215	9,80	0,09	4-Nitro-2,3-dimethylindole
216	9,83	0,26	1-FLUORO-1-(1-HEXYNYL)-2,2-DIMETHYLCYCLOPROPANE
217	9,85	0,4	1-Hydroxy-1,2,2-trimethoxyacenaphthene
218	9,90	0,47	Pentanoic acid, 2-methyl-2-propyl-
219	9,97	0,18	2-[4',4'-Dimethyl-2'-[2"-oxo-2"-(p-chlorophenyl)ethylidene]-pyrrolidin-1'-yl}propionic acid
220	9,99	0,11	Ascaridole epoxide
221	10,02	0,24	(2R,3R,6S)-4-methyl-2,3-bis(4-bromophenyl)-1,4-diazabicyclo[4.3.0]nonane
222	10,10	0,28	(Z)-3-(Bromophenyl)-N-methyl-3-(3-pyridyl)-allylamine
223	10,13	0,24	Pyrimidine-2,4,6-triamine, 5-nitro-, 1,3-dioxide
224	10,16	0,1	Thiophosphoric acid, o-(2-benzylthio-1-phenylethenyl)-o,o-diethyl-
225	10,20	0,47	Coumatetralyl
226	10,22	0,09	ethyl 5,6,7,8-tetrahydroquinoline-3-carboxylate
227	10,23	0,07	Disopyramide
228	10,24	0,32	Cholesta-2,8-dien-6-ol, 14-methyl-, acetate, (5.alpha.,6.alpha.)- (CAS)
229	10,28	0,31	Silane, triethoxy(3-isocyanatopropyl)- (CAS)
230	10,31	0,18	.DELTA.9(12)-CAPNELLENE-5.ALPHA.,8.BETA.,10.ALPHA.-TRIOL
231	10,32	0,38	(2R)-N-[(2S)-2,4-Dimethylhex-4-en-1-oyl]bornane-10,2-sultam
232	10,37	0,56	Lanosta-7,9(11),20(22)-triene-3.beta.,18-diol, diacetate (CAS)
233	10,47	0,48	1,10-DIIODODECANE
234	10,49	0,26	3-(2',3'-DIHYDROXY-3'-METHYLBUTYL)-RESVERATROL
235	10,51	0,12	2,4'-Dichlorodiphenylsulphone
236	10,53	0,26	1H-Indole-3-acetic acid, 5-chloro-2-methyl-1-(trimethylsilyl)-, trimethylsilyl ester (CAS)
237	10,55	0,29	3-(2-(1-Methylpyrrolyl)-5-tributylstannylpyridazine
238	10,58	0,07	29,30-Dinorgammaceran-3-ol, 21,21-dimethyl-22-[(trimethylsilyl)oxy]-, acetate, (3.beta.,8.alpha.,9.beta.,13.alpha.,14.beta.,17.
239	10,59	0,08	cis-3a,4,5,6,7,7a-hexahydro-5,5-dimethyl-1H-inden-1-one
240	10,60	0,06	3-(4,6-DI-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1,2,3,4,5,6-HEXAHYDRO-1,5-METHANO-PYRIDO[1,2-A][1,5]DIAZOCIN-8-ONE
241	10,62	0,18	Furan, 2-[(2-ethoxy-3,4-dimethyl-2-cyclohexen-1-ylidene)methyl]- (CAS)
242	10,64	0,16	Tungsten, pentacarbonyl(propanenitrile)-, (oc-6-22)-
243	10,67	0,49	Kaur-16-en-19-ol
244	10,71	0,06	Quinoline, 2-[2-(3-bromophenyl)ethenyl]-
245	10,73	0,2	N-[2-(3-Acetylamino-2-hydroxy-phenylazo)-phenyl]-acetamide
246	10,75	0,12	Heptane, 1,1'-thiobis- (CAS)
247	10,78	0,23	9-Azabicyclo[3.3.1]nonan-3-one, 9-hydroxy-
248	10,81	0,52	Propanoic acid, 2-[5-(2-hydroxypropyl)tetrahydrofuran-2-yl]-, 1-[5-(1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)tetrahydrofuran-2-yl]propan-2-yl
249	10,84	0,32	diethyldecanedioate
250	10,87	0,48	2-{4-[2-(3-Indolyl)-2-oxoethyl]-1-piperazinyl}quinoline dihydrochloride
251	10,90	0,14	Cimetidine
252	10,97	0,52	1,2,4-1H-Triazole, 1-(2,4,6-trichlorophenyl)-5-dimethylaminomethylenamino-3-methylthio-

253	11,02	0,41	Heptamethylethyloctasilsesquioxane
254	11,06	0,32	3-Butyl-4-nitro-pent-4-enoic acid, methyl ester
255	11,08	0,18	Pentadecanoic acid (CAS)
256	11,10	0,15	DICHLORO-(2,4,6-TRIMETHYLPHENYL)ARSINE
257	11,15	0,53	3-Pyrrolidino-6-(4-bromophenyl)-1,2,4-triazine 4-oxide
258	11,19	0,18	7',8'-Dihydroverbascenin
259	11,26	0,43	N-(3-Chloro-4-fluorophenyl)-3,3,3-trifluoro-N-(5-methyl-2-thiazolin-2-yl)-2-(trifluoromethyl)propionamide
260	11,28	0,14	Spiro[2H-cyclopenta[a]pentalene-2,2'-[1,3]dithiolan]-7-ol, decahydro-3,4,4,6a-tetramethyl-, acetate (CAS)
261	11,29	0,19	Benzyl 3-oxo-5-(nitro-2-oxocyclododecyl)pentanoate
262	11,35	0,58	Cyclopropanecarboxaldehyde, 3-[1,3-dihydroxy-3-[4-hydroxy-3-methyl-5-(2-methyl-3-oxo-1-propenyl)-6-oxabicyclo[3.1.0]hex-1-yl]-2
263	11,38	0,16	2-(4-bromophenyl)-2-hydroxyacetanilide
264	11,40	0,26	Piperid-4-one, 3,5-bis(3-fluorobenzylideno)-1-propyl-
265	11,43	0,22	Bufo-20,22-dienolide, 16-(acetyloxy)-3,14-dihydroxy-, (3.beta.,5.beta.,16.beta.)- (CAS)
266	11,49	0,71	Docosanoic acid, 17-oxo-, methyl ester (CAS)
267	11,56	0,18	Propane, 1,1,1,2,2-pentachloro-3,3,3-trifluoro- (CAS)
268	11,60	0,4	1,4,4-Trimethyl-8-oxa-bicyclo[3.2.1]oct-6-en-one
269	11,65	0,07	4-(3-BROMO-4-ETHOXY-5-METHOXY-PHENYL)-8-NITRO-3A,4,5,9B-TETRAHYDRO-3H-CYCLOPENTA[C]QUINOLINE
270	11,69	0,23	1,3-Dibora-2,4,5-triselanole, 1,3-bis(1-azoniabicyclo[2.2.2]octane)-1,3-diethyl-
271	11,71	0,07	Propyl hexanoate
272	11,74	0,14	.alpha.-D-Galactopyranoside, methyl 2,3-bis-O-(trimethylsilyl)-, cyclic phenylboronate (CAS)
273	11,75	0,13	HEXADECANOIC ACID, 2-HYDROXY-1,3-PROPANEDIYL ESTER
274	11,77	0,21	Hexadecanoic acid, 2-hydroxyethyl ester (CAS)
275	11,81	0,17	1-Butanone, 1-cyclohexyl-4,4-diethoxy- (CAS)
276	11,83	0,04	Pyrido[3',4':5,6]cyclohept[1,2-b]indole-5,5(1H)-dimethanol, 2-ethyl-2,3,4,4a,6,11,12,12a-octahydro-12a-hydroxy-12-methyl- (CAS)
277	11,85	0,17	5-Methoxy-cyclooctene
278	11,88	0,13	(R)-5-(2-Hydroxyethyl)-2(5H)-furanone
279	11,93	0,26	Endrin
280	11,96	0,28	Tungsten, tris(.pi.-allyl)(.pi.-crotyl)-
281	11,98	0,09	Propenone, 1-(4-methyl-2-phenyl-5-thiazolyl)-3-dimethylamino-
282	11,99	0,1	2-Propen-1-one, 1-(4-bromophenyl)-3-phenyl- (CAS)
283	12,02	0,25	N-Didehydrohexacarboxyl-2,4,5-trimethylpiperazine
284	12,04	0,33	5-(3-BROMO-4-ISOPROPOXY-BENZYLIDENE)-1,3-DIMETHYL-2-THIOXO-DIHYDRO-PYRIMIDINE-4,6-DIONE
285	12,08	0,36	l-Aspartic acid, N-(trifluoroacetyl)-, bis(1-methylpropyl) ester (CAS)
286	12,12	0,48	(1H-[1,2,4]TRIAZOL-3-YLSULFANYL)-ACETIC ACID (1-THIOPHEN-2-YL-ETHYLIDENE)-HYDRAZIDE
287	12,19	0,76	9-Octadecenoic acid (Z)-, methyl ester (CAS)
288	12,21	0,12	4,7-Methano-1H-indene, 1,2,3,4,5,6,7,8,8-nonachloro-2,3,3a,4,7,7a-hexahydro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.alpha.,3a.alpha.,4.beta.,7.b
289	12,24	0,13	1-(1'-Methyl-3'-hydroxypropyl)-2-oxocyclododecan-1-carbonitrile
290	12,32	0,48	Acetic acid, trichloro- (CAS)
291	12,35	0,23	Naphtho[2,1-d][1,3]dioxepin, dodecahydro-5a,8,8,11a-tetramethyl-, [5aR-(5a.alpha.,7a.beta.,11a.alpha.,11b.beta.)]- (CAS)
292	12,40	0,19	.DELTA.9(12)-CAPNELLENE-3.BETA.,8.BETA.,10.ALPHA.-TRIOL

293	12,45	0,34	4-Propylcyclohexyl 4-(4-Butylcyclohexyl)cyclohexanecarboxylate
294	12,48	0,36	Acetamide, 2,2'-[oxybis(2,1-ethanediyl oxy)]bis[N,N-diphenyl-
295	12,51	0,26	Isoindole-1,3(1H,3H)-dione, 4,5,6,7-tetrachloro-2-(6-methyl-2-pyridyl)-
296	12,54	0,28	3-[3-(4-CARBAMOYL-PIPERIDIN-1-YL)-PROPIONYLAMINO]-5-FLUORO-1H-INDOLE-2-CARBOXYLIC ACID METHYL ESTER
297	12,56	0,07	1,2,5-Oxadiazol-3-amine, 4-[5-(3-methoxyphenyl)-1,2,4-oxadiazol-3-yl]-
298	12,59	0,36	ODOROSIDE - H
299	12,63	0,68	Thiazole, 5-butyl-2-ethyl- (CAS)
300	12,65	0,59	ZINC CHLORIDE NONAMETHYL PORPHINE COMPLEX
301	12,69	0,38	1-(2-Adamantylidene)semicarbazide
302	12,72	0,64	2H-Pyran-5-carboxylic acid, 4-methoxy-6-methyl-2-oxo-, methyl ester (CAS)
303	12,74	0,7	3-(2'-Bromobutanoyl)4-isopropyl-1,3-oxazolidin-2-one
304	12,80	0,51	2-METHOXY-4-(4-MORPHOLINYL)-6-(1H-PYRROL-1-YL)-1,3,5-TRIAZINE
305	12,85	0,53	Oleic acid, 3-(octadecyloxy)propyl ester (CAS)
306	12,91	0,39	Octadecanoic acid, 18-methoxy-, methyl ester (CAS)
307	12,96	0,1	24,25-Dihydroxycholecalciferol
308	12,99	0,12	dihydropleurotin acid: rel-(3S,4S,4aS,7R,7aS,12bS,12cR)-2,3,4,4a,5,6,7,7a,8,9,12,12b-dodecahydro-3-methyl-9,12-dioxo-12cH-4,12c
309	13,00	0,07	7.BETA.,9.BETA.:8.ALPHA.,10.ALPHA.-BIS(DIMETHYLMETHYLENEDIOXY)-7,8,9,10-TETRAHYDROBENZO[A]PYRENE
310	13,02	0,3	2-Furanoctanoic acid, 5-hexyltetrahydro-, methyl ester (CAS)
311	13,05	0,03	Tetradecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester (CAS)
312	13,06	0,05	5-(1H-INDOL-3-YL)-4-(4-MORPHOLIN-4-YL-PHENYL)-1-PHENYL-4,5-DIHYDRO-1H-[1,2,4]TRIAZOLE-3-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
313	13,11	0,37	Methoxylycopenal
314	13,14 8	0,23	3,6,8-Tribromo-bicyclo[3.2.1]oct-2-ene

6. *B. subtilis* BK.A1

Peak	R. Time	Area%	Name
1	2,53	0,17	Ethyl 2-(1H-tetrazol-5-yl)acetate
2	2,55	0,48	2-Amino-6,7,8,9-tetrahydro-1(2H)-oxobenzo[4,5]thieno[3,2-d]pyrimidine-3-propionic acid
3	2,59	0,49	3,9-DIETHYL-2,4,8,10-TETRAOXA-3,9-DIBORASPIRO[5.5]UNDECANE
4	2,63	0,41	Biotin (CAS)
5	2,66	1	Bicyclo[2.2.1]heptane-7-carboxylic acid, 2,2'-spiro(1,3-dioxolane)-5-chloro-, methyl ester
6	2,72	0,83	Acetic acid, 7-oxo-2-(toluene-4-sulfonyloxy)-bicyclo[3.3.1]non-9-yl ester
7	2,75	0,53	6-(CHLOROMETHYL)-N~2~,N~2~-DIMETHYL-1,3,5-TRIAZINE-2,4-DIAMINE
8	2,79	0,48	6,2,5-Ethanylylidene-2H-cyclobuta[cd][2]benzothiophen-7-one, octahydro-, 1,1-dioxide (CAS)
9	2,82	0,38	1,2-Dicarbadoodecaborane(12), 8-bromo- (CAS)
10	2,86	0,39	Leiocinol
11	2,88	0,13	1',2'-Bis(ethoxycarbonyl)(6.alpha.-hydroxy-3.alpha.,5.alpha.-cycloandrostando)[16.beta.,17-c]-1',2',3',6'-tetrahydro-1',2'-pyrid
12	2,90	0,26	Methyl-.alpha.-naphthyl-p-tolylarsine
13	2,94	0,52	Card-20(22)-enolide, 2,3,14-trihydroxy-, (2.alpha.,3.beta.,5.alpha.)-(CAS)
14	2,99	0,92	NAPHTHALENE, 1,5-DIBROMO-2,6-BIS(BROMOMETHYL)-
15	3,04	0,33	Cholest-5-en-3-ol (3.beta.)- (CAS)
16	3,08	0,54	Isoxazole, 3,4-diphenyl- (CAS)
17	3,12	0,33	3-(4-ISOPROPYLAMINO-6-MORPHOLIN-4-YL-[1,3,5]TRIAZIN-2-YL)-1,2,3,4,5,6-HEXAHYDRO-1,5-METHANO-PYRIDO[1,2-A][1,5]DIAZOCIN-8-ONE
18	3,17	0,14	1-(2-CHLORO-ETHYL)-3-(2,2-DIMETHYL-5-PHENOXYMETHYL-[1,3]DIOXAN-5-YL)-UREA
19	3,23	0,36	Anthracene, 9,10-dihydro-9,10-bis(2-hydroxy-2-propyl)-9,10-dimethyl-
20	3,29	0,57	Alanine, N-isopropyl-3-phenyl-, isopropyl ester, L- (CAS)
21	3,32	0,1	1-Hydroxy-2-(p-fluorophenyl)imidazole-3-oxide
22	3,33	0,16	Octacosanol trimethylsilyl ether
23	3,35	0,05	2-(2-OXOBENZOPYRROLIDIN-3-YLIDENEHYDRAZONO)-5-(4-NITROBENZYLIDENE)-1,3-
24	3,39	0,56	2-(1-Hydroxycyclopentyl)-1-phenyl-2-propen-1-ol
25	3,43	0,17	Tricarbonyl[(1,2,3,4-.eta.-3-oxodec-4-enyl)cyclobuta-1,3-diene]iron
26	3,45	0,5	Lanost-9(11)-en-18-oic acid, 3,3-[1,2-ethanediylbis(oxy)]-20,23-dihydroxy-, .gamma.-lactone, (20.xi.)- (CAS)
27	3,52	0,77	1-(4-BENZYL-PIPERIDIN-1-YL)-3-(2,6-DICHLORO-PHENYL)-PROPENONE
28	3,59	0,77	Trimethylsilyl- 7.beta.-Hydroxyandrosterone or Bis(trimethylsilyl)-3.alpha.,7.beta.-Dihydroxy-5.alpha.-androst-17-one
29	3,62	0,37	1-PENTANONE, 5-METHOXY-1-[4-(TRIFLUOROMETHYL)PHENYL]-, O-(2-AMINOETHYL)OXIME,
30	3,65	0,34	5,6-(n-methylepimino)-5,6-dihydro-.beta.-ionone
31	3,70	0,8	6-(CHLOROMETHYL)-N~2~,N~2~-DIMETHYL-1,3,5-TRIAZINE-2,4-DIAMINE
32	3,73	1	4-(6-Chloro-benzo[1,3]dioxol-5-yl)-6-methyl-2-thioxo-1,2,3,4-tetrahydro-pyrimidine-5-carboxylic acid ethyl ester
33	3,78	0,36	2-(3-CYANO-4,6-DI-THIOPHEN-2-YL-PYRIDIN-2-YLSULFANYL)-PROPIONIC ACID ETHYL ESTER

34	3,83	0,95	Bis[bis(.eta.-5-cyclopentadienyl)-bis(.mu.-propynylzirconium)]
35	3,87	0,27	Thioperoxydicarbonic diamide ([(H ₂ N)c(S)] ₂ S ₂), tetrabutyl- (CAS)
36	3,89	0,32	N1-(2,5-Dimethylphenyl)-N2-isobutyloxamide
37	3,92	0,28	1,3,7-TRIMETHYL-8-({1-[2-(4-MORPHOLINYL)-2-OXOETHYL]-1H-1,2,4-TRIAZOL-5-YL} SULFANYL)-3,7-DIHYDRO-1H-PURINE-2,6-DIONE
38	3,98	0,74	4,4,6-Trimethyl-2-[p-ethoxyphenylamino(imino)]-5,6-dihydro-4H-1,3-oxazine
39	4,00	0,59	Sulfide, cyclopentyl hexyl (CAS)
40	4,04	0,23	1,3-Bis(1-methylethyl)-2-[2'-(2"-propenyloxy)-2'-butenyl]-1,3,2-diazaphosphorinane 2-Oxide
41	4,07	0,45	BIS-TRIMETHYLSILYL-STEARINIC ACID-GLYCERIN-(2)-MONOESTER
42	4,11	0,26	3,3,5,5-D ₄ -CIS-1,2-CYCLOHEXANEDIOL
43	4,14	0,17	2-Heptadecanol, 1-[(2,2-dimethyl-1,3-dioxolan-4-yl)methoxy]-, acetate (CAS)
44	4,17	0,58	3-Hepten-2-one, O-methyloxime (CAS)
45	4,22	0,32	Phosphine oxide, dimethyl(trifluoromethyl)- (CAS)
46	4,29	0,45	2-AMINO-6-(2-FLUOROPHENOXY)-4-PYRIMIDINOL
47	4,35	0,39	Podocarpin-14.beta.-ol
48	4,37	0,33	4'-epsilon.-((t-Butyl)dimethylsilyloxymethyl)-2'-cyclohexyl-3.beta.-methoxy-3',4',16.beta.,17.beta.-tetrahydro-2'H-5.alpha.-an
49	4,39	0,13	1,7,7-Trimethyl-3-trideuteriomethyl-2-oxatricyclo[4.4.0.0(3,6)]decane
50	4,41	0,35	(1RS,2RS,8SR)-2-Chloro-9-oxa-11-azabicyclo[6.3.0]undec-5-en-10-one
51	4,44	0,05	(1R,2S,4'bS,7'R,8'aS,9'R)-4',9'-Dihydroxy-2,4'b,7'-trimethyl-8-methyliden-5',6',-7',8',8'a,9'-hexahydro-spiro[cyclopropan-1,2(1
52	4,46	0,49	Cholesta-8,24-dien-3-ol, (3.beta.,5.alpha.)- (CAS)
53	4,54	0,88	<NO NAME>
54	4,62	0,41	methyl (3R)-6t,9-dihydroxy-8-methylene-(11at)-5,6,7,8,9,10,11,11a-octahydro-3r,11bc-epoxido-6ac,9c-methano-yclohepta[a]naphthal
55	4,65	0,11	CADMIUM CHLORIDE PORPHINE DERIVATIVE COMPLEX
56	4,66	0,13	Bicyclo[4.1.0]hept-3-ene-2,5-dione, 3,7,7-trimethyl-, 5-[(4,7,7-trimethyl-5-oxobicyclo[4.1.0]hept-3-en-2-ylidene)hydrazone] (CA
57	4,69	0,2	Benzenamine, 4-methyl-N-[2-[1-(4-bromophenyl)-5-tetrazolyl]ethenyl]-
58	4,73	0,39	Parguerol acetate
59	4,84	0,88	3-Azabicyclo[3.3.1]nonan-9-ol, 3-methyl-6-(1-pyrrolidinyl)-, (exo,anti)- (CAS)
60	4,86	0,1	Bis(pentamethylcyclopentadienyl-nickel)(.mu.-2-.eta.-5,.eta.-5-trimethylazulene)
61	4,87	0,29	Phosphonic acid, [(triphenylphosphoranylidene)methyl]-, diphenyl ester (CAS)
62	4,89	0,26	IRON, CARBONYL[(2,3,4,5-.ETA.)-DIETHYL 2,4-HEXADIENEDIOATE][(2,3,4,5-.ETA.)-METHYL 2,4-HEXADIENOATE]-
63	4,94	0,41	Cyclopentane, 1-(9-borabicyclo[3.3.1]non-9-yloxy)-2-[2-(9-borabicyclo[3.3.1]nonylthio)ethylthio]-
64	4,98	0,22	N-[4-[[2-Amino-1,4,7,8-tetrahydro-4-oxo-6-pteridiny]methyl]amino]benzoyl]-L-glutamic acid
65	4,99	0,11	Tetrafluoro oxorhenium pentafluoro antimony adduct
66	5,04	0,63	Ethyl 2-p-Bromophenoxy-2-methyl-propionate
67	5,07	0,41	2-METHYL-4,6-CHLOROPHENOL-TRIMETHYL-SILYL-ETHER
68	5,17	1,02	N-(4-bromobenzylidene)(trimethylsilyl)amine
69	5,18	0,28	NORPROXYPHENE
70	5,21	0,13	3-(4-METHYL-1,2,5-OXADIAZOL-3-YL)-4,5-ISOXAZOLEDIONE

			DIOXIME
71	5,28	0,47	N-(4-Chlorophenyl)-a-pyrrolidinomaleimide
72	5,34	0,78	Benzenecarbothioic acid, 2-(1-methylethyl)hydrazide (CAS)
73	5,40	0,46	1,1'-Biphenyl, 4'-(4-ethylcyclohexyl)-3,4-difluoro-
74	5,42	0,17	SERINE THIOHYDANTOIN
75	5,45	0,21	9-9-DIDEUTERO PYRAZOLYL(4,5)CYCLOOCTANE
76	5,48	0,18	[2]Benzopyrano[4,3-b][1]benzopyran-7(5H)-one, 3,4,8,10-tetramethoxy- (CAS)
77	5,51	0,21	Butanamide, 3-(methoxyacetylhydrazono)- N-(2-tetrahydrofurfuryl)-
78	5,53	0,23	3,3'-DICYCLOHEXYL-5-(3-METHYL-3H-BENZOTHAZOL-2-YLIDENE)-2'-THIOXO-[2,5']BITHIAZOLIDINYLIDENE-4,4'-DIONE
79	5,55	0,22	N,N'-(Oxydi-4,1-phenylene)bis(2,2,2-trichloroacetamide)
80	5,58	0,1	N-[4-(4-PYRIDINYLMETHYL)PHENYL]-1-PYRROLIDINESULFONAMIDE
81	5,60	0,29	Pyrimidine, 4-fluoro-2-dimethylamino-
82	5,62	0,59	N,N'-Bis(2,4,6-trichlorophenyl)suberamide
83	5,68	0,38	Benzenesulfonamide, N-[2-(3,4-diethoxyphenyl)ethyl]-4-methoxy-
84	5,71	0,24	3,4-DIMETHOXY-BENZOIC ACID 8-ACETYL-8-AZA-BICYCLO[3.2.1]OCT-3-YL ESTER
85	5,74	0,09	Cyclopropa[5,6]-A-nor-5.alpha.-androstane-3,7-dione, 3',6.beta.-dihydro-17.beta.-hydroxy-3',3'-dimethyl-, acetate
86	5,79	0,61	(7,7-DIMETHYL-2-OXOBICYCLO[2.2.1]HEPT-1-YL)-N-(1-HYDROXY-2,2,6,6-TETRAMETHYL-4-PIPERIDINYL)-N-METHYLMETHANESULFONAMIDE
87	5,85	0,28	1,3,5-TRIAZINE-2-ACETIC ACID, .ALPHA.(2)-[[1,1-DIMETHYLETHYL)OXIDANYL]OXIDANYLIDENEMETHYL]-4-(DIPHENYLAMINO)-6-(1H-IMIDAZOL-1-
88	5,90	0,1	3Beta-acetoxy-5-formyloxy-7-oxo-6-oxa-5xi-androstan-17-one
89	5,93	0,28	2H-Pyran, 2-(3-heptadecynyloxy)tetrahydro- (CAS)
90	5,98	0,34	1,4-Dimethylcyclododeca-5,11-diene-1,4-diol
91	6,01	0,09	3-(tert-Butoxycarbonyl)-5-methyl-4,5-dihydroimidazo[1,5-a]benzo[f][1,4]diazepin-6-one
92	6,03	0,12	3-Cyclopentylpropionic acid, 2-pentyl ester
93	6,07	0,33	.alpha.-d-Mannofuranoside, isopropyl-
94	6,11	0,14	Bis-.mu.-3-[2-(dimethylamino)ethylphosphinidene]-tris(tricarbonyl-iron)
95	6,12	0,12	trimethylene thieno[2,3-d]-tetrahydropyrido[1,2-a]-pyrimidin-4-one
96	6,16	0,14	Ecdysterone
97	6,19	0,19	Methyl (2R,6R)-2-[4,6-Dimethyl-6-(hydroxymethyl)morpholinyl]acetate
98	6,22	0,02	5,9-Methanobenzocycloocten-10-ol, 3-chloro-5,6,7,8,9,10-hexahydro-5,7,7,9-tetramethyl-, (5.alpha.,9.alpha.,10.beta.)-
99	6,24	0,1	DI-2-BENZOTHAZOLE DISULFANE
100	6,26	0,09	2-[4-ETHOXY-A-(2-HYDROXY-4,4-DIMETHYL-6-OXO-1-CYCLOHEXEN-1-YL)-3-
101	6,27	0,08	5-(2,4-Dichlorophenoxy)lethyloxol-3-en-2-one
102	6,28	0,16	15,16-bis-nor-Labdane-8.alpha.,13,14-triol
103	6,33	0,28	Butanoic acid, 2,3-dibromo-, ethyl ester (CAS)
104	6,37	0,33	16-OXO-17-NOR-9(11)-KAUREN-18-CARBOXYLIC ACID-METHYLESTER
105	6,41	0,24	Cholestan-6-one (CAS)
106	6,44	0,23	2-ACETAMIDO-3A-HYDROXY-3AH-CYCLOPENTA(1)PHENANTHRENE-1-CARBOXAMIDE
107	6,46	0,55	2-HYDROXY-5-[(6-METHOXY-2-METHYL-4-QUINOLINYL)AMINO]BENZOIC ACID

108	6,50	0,39	2-Methyl-4-nitro-5-pyrrolidin-1-yl-phenylamine
109	6,54	0,17	Butanedioic acid, bromo-, (.+/-.)-
110	6,59	0,48	Sulfonium, dimethyl-, cyanonitromethylide
111	6,61	0,17	Hexadecanoic acid, 2-(acetyloxy)-1-[(acetyloxy)methyl]ethyl ester (CAS)
112	6,62	0,09	Molybdenum, tris(.eta.-4-2-phenyl-1-buten-3-one)
113	6,67	0,54	Temik
114	6,70	0,1	8-Bromo-7-methyl-4-(4'-chlorophenyl)pyrazolo[3,2-c][1,2,4]triazin-3-ylphosphonic acid diethyl ester
115	6,73	0,5	Thiazole, 2,4-dimethyl- (CAS)
116	6,78	0,4	2,5-DIHYDROXY-1,4-BENZOQUINONE-2,5-D2
117	6,81	0,14	2,6-Dihydroxybenzaldehyde, carbamoylhydrazone
118	6,82	0,07	6-Bromohexanoic acid, 5-ethyl-3-octyl ester
119	6,87	0,58	bis(5,5-dimethyl-2-oxo-1,3,2-dioxaphosphorinanyl) sulphide
120	6,89	0,24	Guanosine (CAS)
121	6,91	0,08	(E)-Non-2-en-4-ynoic acid
122	6,92	0,22	3,5-DICHLORO-2-METHOXY-6-METHYL-4-PYRIDINOL
123	6,95	0,17	ACETONE (4-[1,1'-BIPHENYL]-4-YL-1,3-THIAZOL-2-YL)HYDRAZONE
124	6,99	0,33	Propionic acid, 2-[(2-dicyclohexylcarbamoylcyclohexanecarbonyl)(2-hydroxyethyl)amino]ethyl ester
125	7,03	0,44	Propanedioic acid, monocyclohexyl ester
126	7,06	0,59	Cyclohexane, 1,2,3,4,5,6-hexachloro-, (1.alpha.,2.alpha.,3.beta.,4.alpha.,5.alpha.,6.beta.)- (CAS)
127	7,13	0,75	Copper, bis(4-chloro-3,5-cyclohexadiene-1,2-dione 2-oximato-N2,O1)- (CAS)
128	7,20	0,88	3-Diethylsulfamoyl-N-O-tolyl-benzamide
129	7,26	0,49	1,3,5-Triazine-2,4-diamine, N,N'-bis(1-methylethyl)-6-(methylthio)- (CAS)
130	7,28	0,26	4-PHENYL-1-(3-TRIFLUOROMETHYL-PHENYL)-4,6,7,8-TETRAHYDRO-1H,3H-QUINOLINE-2,5-DIONE
131	7,34	0,31	8,11,14-Eicosatrienoic acid, methyl ester (CAS)
132	7,37	0,21	6-[(7-Isopropyl-1,4a-dimethyl-1,2,3,4,4a,9,10,10a-octahydrophenanthren-1-ylmethyl)carbamoyl]-6'-methyl-2'-nitrobiphenyl-2-carbo
133	7,41	0,5	Morphine
134	7,47	0,39	8-(2-Octylcyclopropyl)-8-oxooctanoic acid, methyl ester
135	7,51	0,53	Bicyclo[2.2.1]heptan-2-ol, 4-chloro-1,7,7-trimethyl-, exo- (CAS)
136	7,59	0,62	ACETAMIDE, N-(2-CHLORO-4-METHOXYPHENYL)-2-(3,4-DIETHOXYPHENYL)-
137	7,60	0,31	.beta.-Chlordene
138	7,65	0,36	2-Heptenoic acid, methyl ester (CAS)
139	7,67	0,08	Stannane, methyltris(pentafluorophenyl)- (CAS)
140	7,69	0,38	1-(4-CHLORO-PHENYL)-7-(4-METHYL-PIPERAZIN-1-YL)-6-NITRO-4-OXO-1,4-DIHYDRO-QUINOLINE-3-CARBOXYLIC ACID ETHYL ESTER
141	7,72	0,32	Pregnane-3,20-dione, 21-[(trimethylsilyl)oxy]-, bis(O-methyloxime), (5.alpha.)- (CAS)
142	7,75	0,35	Glycine, N-(1-oxohexyl)-, trimethylsilyl ester (CAS)
143	7,79	0,23	1-{1-[4-(DIMETHYLAMINO)-6-METHOXY-1,3,5-TRIAZIN-2-YL]-5-METHYL-1H-1,2,3-TRIAZOL-4-YL}ETHANONE
144	7,82	0,22	METHYL 4-(2,5-DIMETHOXYPHENYL)-6-METHYL-2-THIOXO-1,2,3,4-TETRAHYDRO-5-PYRIMIDINECARBOXYLATE
145	7,85	0,34	Octadecanoic acid, propyl ester (CAS)

146	7,88	0,25	3-(dimethylamino)-2,2-dimethyl-2H-azirine
147	7,93	0,34	2,4-DIPHENYL-1,2,4-TRIAZA-SPIRO[4.5]DECANE-3-THIONE
148	7,97	0,18	isosorbide-bis(trimethylsilyl)ether
149	8,00	0,2	Nonadeca - dien - one
150	8,01	0,11	Hexadecanoic acid, 2-[(1-oxohexyl)oxy]-1,3-propanediyl ester (CAS)
151	8,04	0,48	1H-Purine-2,6-dione, 7-(2,3-dihydroxypropyl)-3,7-dihydro-1,3-dimethyl- (CAS)
152	8,06	0,3	Crassanine
153	8,10	0,38	Pregn-4-ene-3,11,20-trione, 17,21-bis[(trimethylsilyl)oxy]-, 3,20-bis(O-methyloxime) (CAS)
154	8,13	0,45	Z-4-decenal
155	8,18	0,43	2-(3-Carboethoxyphenyl)-1,3-dithiane
156	8,21	0,33	Benzo[b]selenophene-2-carboxaldehyde, 3-bromo- (CAS)
157	8,23	0,36	Molybdenum, [(1,2,3,4,5-eta.)-1-(1-methylethyl)-2,4-cyclopentadien-1-yl]bis(eta.3-2-propenyl)-
158	8,25	0,37	2-Isopropenyl-4,4,7a-trimethyl-2,4,5,6,7,7a-hexahydro-benzofuran-6-ol
159	8,32	0,58	3-(ETHYL-1,1-D2-THIO)PROPANOIC ACID
160	8,34	0,51	Butanedioic acid, 2,3-dimethoxy-, diethyl ester (CAS)
161	8,40	0,46	2,4,6(1H,3H,5H)-Pyrimidinetrione, 5-ethyl-5-(3-hydroxypentyl)- (CAS)
162	8,46	0,52	3-(Cyclohexylenemethyl)-3-pentanol
163	8,48	0,24	Z5-DECENYLACETATE
164	8,50	0,22	(8.ALPHA.,14.BETA.,18.BETA.)-2.ALPHA.-ACETYLOXY-3.BETA.,22.ALPHA.-DIHYDROXY-21,21-DIMETHYL-29,30-DINORGAMMACERANE
165	8,52	0,15	d-Glucopyranose, tetraacetyl-1-O-[[4-(4-pentyl)cyclohexyl]cyclohexyloxy]-
166	8,55	0,3	2,3-EPOXY-2,6,6-TRIMETHYL-CYCLOHEPT-4-EN-1-OL
167	8,58	0,07	2-(1-PIPERIDINYLCARBOTHIOYL)HYDRAZINECARBOTHIOAMIDE
168	8,62	0,42	7-METHYLGUANINE-DI-TMS
169	8,67	0,37	CARBAMIC ACID, [1-(4-FLUOROPHENYL)-2,5-DIOXO-4-TRIFLUOROMETHYLMIDAZOLIDIN-4-YL]-, ETHYL ESTER
170	8,68	0,43	Propenamide, N-(2-furfuryl)-3-(2-thienyl)-
171	8,73	0,09	Chrysorrhodial
172	8,74	0,72	Cholestane, 5,6-epoxy-, (5.alpha.,6.alpha.)- (CAS)
173	8,82	0,58	BROMO-5 HYDROXY-6 URACIL
174	8,87	0,38	Carveol, dihydro-, cis-
175	8,89	0,1	10-Chloro-1,2,7,11b-tetrahydro-r-2-hydroxy-t-2,7-dimethyl-t-11b-phenylpyrrolo[1,2-d][1,4]benzodiazepine-3,6(5H)-dione
176	8,92	0,51	p-Mentha-6,8-dien-2-one, semicarbazone (CAS)
177	8,95	0,47	Pyrazole, 3-methylaminomethyl-5-propyl-
178	8,98	0,32	Methyl (2E,4Z)-2,4,5-trideuteriohepta-2,4-dienoate
179	9,02	0,36	2-(1,2,3,4-TETRAHYDRONAPHTHALEN-1-YLIDEN)HYDRAZINE-1-CARBOTHIOAMIDE
180	9,04	0,57	7a-(Acetyloxy)-10-[(acetyloxy)methyl]-5b-hydroxy-2,2,4,6,8,8-hexamethyl-5a,5b,6,7,8,8a,8b,11-octahydrocyclopropa[3',4']benzo[1'
181	9,07	0,38	3-METHYL-1-[1-METHYL-2-(4-METHYL-3-NITROANILINO)-2-OXOETHYL]PYRIDINIUM BROMIDE
182	9,12	0,86	.beta.-D-Mannopyranose, 2,4,6-tri-O-methyl-, diacetate (CAS)
183	9,16	0,67	1,2,3,4,4a,5,6,7,8,8a,9-Dodecahydrophenanthren-9-one, 2-acetoxy-7-methylene-1,1,4a-trimethyl-8-(2-methoxycarbonylethyl)-
184	9,20	0,1	3-(4-NITRO-PHENYLSULFANYL)-PROPIONIC ACID

185	9,21	0,39	2,5-Cyclohexadiene-1,4-dione, 2-(3,4-dihydro-5-hydroxy-7-methoxy-4 (CAS)
186	9,26	0,59	LSD
187	9,30	0,11	5-[3-BROMO-4-[2-(3,4-DIMETHYL-PHENOXY)-ETHOXY]-5-METHOXY-BENZYLIDENE]-1-P-TOLYL-PYRIMIDINE-2,4,6-TRIONE
188	9,33	0,48	2-(4-BROMO-PHENYL)-1-(3-METHOXY-PROPYL)-5,7-DIMETHYL-1H,7H-1,3A,5,7,8-PENTAAZA-CYCLOPENTA[A]INDENE-4,6-DIONE
189	9,37	0,49	Cyclooctane-1,4-diol, cis
190	9,40	0,22	N,N'-Ethylenebis(5,5,5-trifluoro-4-oxopentan-2-imine)
191	9,41	0,27	.beta.-L-Altropyranoside, phenylmethyl 2,4-bis(acetylamino)-2,4,6-trideoxy-,3-acetate (CAS)
192	9,45	0,85	(-)-(3S,1'R)-3,4-Dihydro-7-nitro-3-(2-nitro-1-phenylethyl)-2(1H)-naphthalenone
193	9,49	0,82	Pyrrolidine, 1-(1-oxo-7,10-octadecadienyl)- (CAS)
194	9,54	0,73	Phenol, 2-amino-4-nitro- (CAS)
195	9,59	0,34	N2-Isopropyl-5-methyl-1,3,4-thiadiazol-2-amine
196	9,62	0,42	N-[.alpha.-(2'-Thienyl)-2-thienyl]dimethylamine
197	9,66	0,38	Thiopropazate
198	9,71	0,3	4-Thiazoleacetic acid, 2-(3-chloro-4-hydroxyphenyl)- (CAS)
199	9,74	0,26	methyl 3-{[5-(2,3-epoxy-5-hydroxy-4-methylhexyl)-3,4-dihydroxytetrahydropyran-2-yl]methyl}-2-isopropylbut-3-enoate
200	9,79	0,62	Z-7-Hexadecenal
201	9,85	0,57	Curan-19,20-diol, 16,17-didehydro-, (19S)- (CAS)
202	9,87	0,1	METHYLAMINO-2,5-DICHLOROBENZOPHENONE, 2-
203	9,93	0,74	Carbamic acid, (3,4-dichlorophenyl)-, methyl ester (CAS)
204	9,98	0,4	3,4-Pyridinedicarboxylic acid, 5-hydroxy-6-methyl- (CAS)
205	10,02	0,16	Benzenamine, 2,5-dichloro-4-nitro- (CAS)
206	10,05	0,27	4H-1-Benzopyran-4-one, 2-(3,4-dimethoxyphenyl)-7-hydroxy- (CAS)
207	10,07	0,09	2-Propanone, methyl-2-propynylhydrazone (CAS)
208	10,13	0,32	2-(1-Propenylthio)-1-propene-1-thiol
209	10,16	0,23	1,13-Dideuterio-1,3,5,7,11,13-hexahydroxy-2,6,10-trimethyltridecane
210	10,20	0,14	Phosphine, diphenyl(phosphinomethyl)-
211	10,23	0,22	Astaxanthin
212	10,25	0,3	7-Thiabicyclo[4.1.0]heptane, 2-methyl- (CAS)
213	10,32	0,4	PERFLUOROKEROSENE
214	10,37	0,31	N-(2,4-DIMETHOXY-PHENYL)-6-MORPHOLIN-4-YL-N'-(4-TRIFLUOROMETHOXY-PHENYL)-[1,3,5]TRIAZINE-2,4-DIAMINE
215	10,40	0,03	4-Pyridinecarboxylic acid, 2-methyl-5-[(trimethylsilyl)oxy]-3-[[trimethylsilyl]oxy]methyl]-, trimethylsilyl ester (CAS)
216	10,41	0,07	[1,2,4]Triazolo[1,5-a]pyrimidin-7-ol, 2-amino-5-methyl-
217	10,47	0,36	2-Hexadecen-1-ol, 3,7,11,15-tetramethyl-, [R-[R*,R*-(E)]]- (CAS)
218	10,49	0,27	Oxirane, tetradecyl-
219	10,53	0,21	(2,2,2-Trichloro-1-isothiocyanato-ethyl)-carbamic acid ethyl ester
220	10,57	0,16	4H-1-Benzopyran-4-one, 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)-3-methoxy- (CAS)
221	10,59	0,14	Pederone
222	10,64	0,24	2,3-Cyclooctane-1',5'-diylboryl-3,4,5-triethyl-4-methyl-1,2,5-oxadiborolane
223	10,66	0,05	(1R,4S,5R,8S,9S)-4,8-cyclocaryophyllan-5-ol

224	10,67	0,04	1,2-Diborane(4)diamine, 1,2-diethyl-N,N,N',N'-tetramethyl- (CAS)
225	10,70	0,27	3-Propylglutaric acid
226	10,75	0,52	Phenol, 4-nitro-2-(1,2,4-triazol-3-yl)iminomethyl-
227	10,81	0,51	DODECYLDIGLYCOL
228	10,85	0,26	3,9-DIETHYL-2,4,8,10-TETRAOXA-3,9-DIBORASPIRO[5.5]UNDECANE
229	10,88	0,08	1(ax)-Ethyl-1(eq)-[(ethoxycarbonyl)methyl]-4(eq)-(t-butyl)cyclohexane
230	10,90	0,17	2(1H)-Naphthalenone, octahydro-8,8a-dimethyl-, (4a.alpha.,8.beta.,8a.beta.)- (CAS)
231	10,93	0,62	N-HEXYL-CIS-HEXEN-2-OATE
232	10,99	0,19	Carapanaubine
233	11,03	0,12	2-Oxoadamantane-1-carboxylic acid, methyl ester
234	11,07	0,53	5-Ethyl(dimethyl)silyloxytridecane
235	11,10	0,16	Drebyssogenin j
236	11,13	0,11	Deuteromethapyrilene
237	11,16	0,29	Sonapax
238	11,20	0,19	4-(5-Propyl-1,3-dioxan-2-yl)benzonitrile
239	11,23	0,13	Silane, [(dichlorostannylene)dimethylidene]tetrakis[trimethyl-
240	11,24	0,09	2-(N,N-dimethylhydrazino)cyclopentanecarbonitrile
241	11,26	0,22	15-Tetracosenoic acid, methyl ester, (Z)- (CAS)
242	11,27	0,08	2-(1,2-Dichloro-1,2,2-trifluoroethyl)heptanal
243	11,28	0,09	Endosulfan
244	11,34	0,5	Eicosanoic acid, 11-oxo-, methyl ester (CAS)
245	11,37	0,27	Cholest-4-en-3-ol, (3.beta.)- (CAS)
246	11,40	0,23	4a,7,7,10a-Tetramethyldodecahydrobenzo[f]chromen-3-ol
247	11,45	0,47	IRON IODIDE COMPLEX I
248	11,53	0,19	Cyclododecane, 1,5,9-tris(acetoxy)-
249	11,56	0,39	3,5-DIDODECYLTETRONIC ACID
250	11,59	0,2	1-Oxo-16-[2'-oxo-3',4'-dimethyl-2',5'-dihydropyran-2'-yl]-9,16-epoxy-stigmastan - derivative
251	11,61	0,21	cis-2-(3-Bromophenyl)-4-hydroxytetrahydropyran
252	11,63	0,13	5-(7a-Isopropenyl-4,5-dimethyl-octahydroinden-4-yl)-3-methyl-pent-2-enal
253	11,68	0,27	5-(1,3-BENZODIOXOL-5-YL)-2-(2-CHLOROBENZYL)-2H-TETRAAZOLE
254	11,71	0,19	2(1H)-Pyrimidinone, 5-(acetyloxy)tetrahydro-4-hydroxy-1,3-dimethyl- (CAS)
255	11,74	0,33	Thiazolo[3,2-a]pyridinium, 8-(acetyloxy)-3-hydroxy-2-methyl-, hydroxide, inner salt (CAS)
256	11,77	0,23	INDENO[1,2-B]QUINOLINE,11-CYCLOHEXYLIMINO-3-METHYL-
257	11,82	0,41	Spirost-8-en-11-one, 3-hydroxy-, (3.beta.,5.alpha.,14.beta.,20.beta.,22.beta.,25R)- (CAS)
258	11,84	0,05	Malonic acid, 1,3-dithio-, bimol. cyclic S,S-ethylene ester (CAS)
259	11,85	0,15	Benzene, dichloropropyl- (CAS)
260	11,88	0,09	Phosphorothioic acid, S-[2-[(1-cyano-1-methylethyl)amino]-2-oxoethyl] O,O-diethyl ester (CAS)
261	11,90	0,01	Debenzoyl-7-deoxo-1.alpha.,7.alpha.-dihydroxytashironin
262	11,91	0,02	Pyrimidine-4-ol, 2,6-diamino-5-benzylidenamino-
263	11,92	0,08	2-Pentyl-cyclohexane-1,4-diol
264	11,97	0,1	Propanoic acid, 2-(2,4,5-trichlorophenoxy)-, methyl ester (CAS)

265	12,01	0,15	1,4-Methano-3-benzoxepin-5,10-diol, decahydro-2,2,9,9a-tetramethyl- (CAS)
266	12,05	0,07	THIOPROPERAZINE (FIRST SPECTRUM)
267	12,06	0,04	5-(ETHYLAMINOCARBONYL-SULFAMOYL)-[1,2,4]TRIAZOLE-1-CARBOXYLIC ACID ETHYLAMIDE
268	12,07	0,12	DI-2-BENZOTHAZOLE DISULFANE
269	12,09	0,15	ETHYL N'-[(3-NITROPHENYL)METHYLIDENE]HYDRAZONOTHIOCARBAMATE HYDROCHLORIDE
270	12,12	0,08	1H-[1,2,4]TRIAZOLE-3-CARBOXYLIC ACID [4-[(TETRAHYDRO-FURAN-2-YLMETHYL)-CARBAMOYL]-PHENYL]-AMIDE
271	12,14	0,19	Butane, 1,2,3,4-tetrachloro- (CAS)
272	12,16	0,31	Olean-13(18)-ene (CAS)
273	12,22	0,68	Halcion (triazolam)
274	12,27	0,33	Coumarin, 6-nitro-3-(2,4-dinitrophenyl)-
275	12,29	0,23	1-Phosphetaneethane(dithioic) acid, 2,2,3,4,4-pentamethyl-, methyl ester, 1-oxide
276	12,35	0,42	11-BROMO-1,1-DIDEUTERIOUNDECANOL, O-TRIMETHYLSILYL
277	12,37	0,31	2-(3-Acetoxy-4,4,10,13,14-pentamethyl-2,3,4,5,6,7,10,11,12,13,14,15,16,17-tetradecahydro-1H-cyclopenta[a]phenanthren-17-yl)-pro
278	12,39	0,35	Propanoic acid, 2-[5-(2-hydroxypropyl)tetrahydrofuran-2-yl]-, 1-[5-(1-methoxy-1-oxopropan-2-yl)tetrahydrofuran-2-yl]propan-2-yl
279	12,42	0,23	3,6-Nonadien-5-one, 2,2,8,8-tetramethyl- (CAS)
280	12,45	0,23	Benzene, 1,2-bis(chloromethyl)-3,6-dimethoxy-4,5-dimethyl-
281	12,46	0,22	1b,4a-Epoxy-2H-cyclopenta[3,4]cyclopropa[8,9]cycloundec[1,2-b]oxiren-5(6H)-one, 7-(acetyloxy)decahydro-2,9,10-trihydroxy-3,6,8,
282	12,50	0,27	3-(4-Hydroxy-4-methoxycarbonylmethyl-3-methyl-2-oxopyrrolidin-3-yl)propionic acid, methyl ester
283	12,53	0,37	Benzenecarbothioic acid, 2-(1-methylethyl)hydrazide (CAS)
284	12,56	0,26	Heptafluorobutyl-isobutyl derivative of dideutero-decarboxylate-.gamma.-carboxy-glutamic acid
285	12,58	0,07	1,4-Thiazine, perhydro-1-benzoylimino-4-(3-chloro-5-trifluoromethyl-2-pyridyl)-
286	12,61	0,28	6-Cyanomethoxy-N-methoxymethyl-N',N'-dimethyl-1,3,5-triazine-2,4-diamine
287	12,64	0,36	Pyrimidine-4,6-dione, hexahydro-3-ethyl-5-(5-nitrothiophen-2-ylmethylidene)-2-thioxo-
288	12,70	0,99	Hexadecanoic acid, 1,2,3-propanetriyl ester (CAS)
289	12,75	1,13	1H-Thieno[3,4-d]imidazole-4-propanoic acid, hexahydro-2-oxo-, [3aS-(3a.alpha.,4.beta.,6a.alpha.)]- (CAS)
290	12,77	0,18	8-EPIAMBREINOLIDE
291	12,79	0,6	L-Valine, N-[N-[1-(N-formyl-L-isoleucyl)-L-prolyl]-N-methylglycyl]-N-methyl-, methyl ester (CAS)
292	12,84	0,31	Cinerin II
293	12,87	0,11	4a,7a-Epoxy-5H-cyclopenta[a]cyclopropa[f]cycloundecene-2,4,7,10,11-pentol, 1,1a,2,3,4,6,7,10,11,11a-decahydro-1,1,3,6,9-pentame
294	12,88	0,07	Stannane, tetrakis(1-methylethyl)- (CAS)
295	12,92	0,14	2,5-DICHLORO-N-CYCLOHEXYLBENZENESULFONAMIDE
296	12,95	0,19	Malathion E50
297	12,99	0,18	PLUMBANE, ETHYLTRIMETHYL-
298	13,07	0,67	1,1-Bis(2,6-dioxo-4,4-dimethylcyclohexyl)ethane
299	13,09	0,17	Prosta-5,8(12),13-trien-1-oic acid, 15-hydroxy-9-oxo-, methyl ester, (5Z,13E,15S)- (CAS)

300	13,12	0,27	4a-Hydroxy-4-nitroperhydronaphthalen-1-one
301	13,15	0,24	Trimethyl- {[2'-[(2"-phenylethynyl)cyclopent-1'-en-1'-yl]ethynyl} benzene
302	13,17	0,14	Butanoic acid, 2-[(trimethylsilyl)amino]-4- [[[(trimethylsilyl)oxy)methyl]phosphinyl]-, trimethylsilyl ester, (S)- (CAS)

Short Communication: Isolation and characterization of the endophytic bacteria, and their potential as maize diseases control

ENDANG MUGIASTUTI*, SUPRAYOGI, NUR PRIHATININGSIH, LOEKAS SOESANTO

Faculty of Agriculture, Universitas Jenderal Soedirman. Jl. Dr. Suparno, Karangwangkal, Purwokerto Utara, Banyumas 53123, Central Java, Indonesia.
Tel./fax.: +62-281-638791, *email: endangmugiaastuti@gmail.com.

Manuscript received: 13 November 2019. Revision accepted: 6 April 2020.

Abstract. Mugiaastuti E, Suprayogi, Prihatiningsih N, Soesanto L. 2020. Short Communication: Isolation And Characterization Of The Endophytic Bacteria, And Their Potential As Maize Diseases Control. Biodiversitas 21: 1809-1815. Sheath blight and bacterial wilt are diseases that can reduce maize production. Biological control with the endophytic bacteria offers environmentally friendly control for these pathogens. The study aimed to isolate and characterize the endophytic bacteria morphologically and biochemically and to study their potential to control maize diseases, especially sheath blight and bacterial wilt causing pathogens. The study was conducted at the Plant Protection Laboratory, Faculty of Agriculture, Jenderal Soedirman University, from April to August 2019. The study consisted of four stages: isolation and characterization of endophytic bacteria, the antagonism test of the endophytic bacterial to *R. solani*, the antagonism test of the endophytic bacteria to *Pantoea* sp., and the mechanical test of the endophytic bacteria as biological control agents and plant growth-promoting bacteria. Based on the research, four endophytic bacteria isolates have been successfully isolated, and characterized successfully and found have the potential to be developed as biopesticides to control maize disease, especially *R. solani* and *Pantoea* sp. *Bacillus* sp. endophytic from the root (BK.A1; BK.A3; PP.A5) and *Bacillus* sp. endophytic from the stem (PPD.B2) can suppress the growth of *R. solani* by more than 50%, have a strong antagonistic index against *Pantoea* sp (> 4), and can produce protease and lipase enzyme, and phosphate solubilization.

Keywords: *Bacillus*, fluorescent *Pseudomonas*, *Pantoea*, *Rhizoctonia solani*

INTRODUCTION

Maize is a strategic food commodity in the world. In Indonesia, the government seeks to achieve self-sufficiency in maize through increasing production of sustainable maize. However, these efforts have faced several obstacles; one of them is the presence of plant diseases such as sheath blight caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn, and bacterial wilt caused by *Pantoea stewartii*. *R. solani* can infect up to the midrib of the cob (Djaenuddin et al. 2017), resulting in up to 100% decrease in the yield (Muis 2007). *Pantoea* sp. can attack all stages of the plant causing wilting and leaf blight, and is known as Stewart's wilt (Pataky 2004; Ammar et al. 2014). The pathogens can cause 40-100% yield loss.

Over the past 3 decades, the concept of sustainable and environmentally friendly agriculture has been carried out by minimizing the use of chemicals, both synthetic fertilizers, and pesticides. In the management of pests and plant diseases, biological control is developed by applying biological agents including endophytic bacteria (Shanti and Vittal 2013). Many endophytic bacteria can pass the endodermic barrier across from the root cortex to the vascular system, and subsequently develop as endophytes in stems, leaves, tubers, and other organs (Compant et al. 2005). The use of endophytic bacteria as biological agents has an advantage compared to rhizosphere bacteria because

endophytic bacteria live and survive in the plant tissue during plant development, thus protecting the plants.

Bacillus sp. and fluorescent *Pseudomonas* are reported to be able to live as endophytes and are widely used as biological control agents for soil-borne and air-borne diseases. The endophytic bacteria could control plant diseases through several mechanisms including competition, hyperparasitism, producing microbial inhibiting compounds (antibiotics, lysis enzymes, other physical or chemical disorders), enhancing plant resistance, and promoting plant growth (Compant et al 2005, Pal and McSpadden-Gardener 2006; Rosenblueth and Martinez-Romero 2006).

Based on the mechanisms, the use of endophytic bacteria isolated from maize, both upland and lowland, suggested potentially alternative control for sheath blight (*R. solani*) and bacterial wilt (*Pantoea* sp). The research aimed to isolate and characterize morphologically and biochemically the endophytic bacteria as well as their potential to control pathogens that cause disease in maize especially *R. solani* and *Pantoea* sp.

MATERIALS AND METHODS

This research was conducted at the Laboratory of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Jenderal Soedirman

University, Purwokerto, Central Java, Indonesia, from April to August 2019

Isolation *Rhizoctonia solani*

Rhizoctonia solani was isolated from maize with sheath blight symptoms and there was sclerotium as a resistant structure from the pathogenic fungi in Banyumas. *R. solani* isolation was carried out based on Al-Fadhal et al. 2019. Disease samples were cut 0.5 x 0.5 cm, then sterilized with NaOCl (1%) for 2 min, and rinsed with sterile water 3 times. Disease samples pieces were then dried using sterile filter papers, and transferred to Petri dishes containing PDA medium to obtain pure *R. solani* isolates.

Isolation *Pantoea* sp.

Pantoea sp. was isolated from diseased maize samples taken from the maize growing area in Banyumas Regency according to Coplin et al. (2012); Aini et al. (2013) and Desi et al. (2014). Diseased leaves or stems were washed with running water, then dried with a tissue. Diseased samples were cut 1.5 x 5 cm, then sterilized with ethanol 70% and rinsed with sterile water 3 times. Furthermore, the sample was crushed with 5 ml of sterile distilled water using a sterile mortar. The bacterial suspension was streaked on nutrient agar and incubated 3-5 days. Bacterial colonies that exhibit the character of *Pantoea* sp. were yellow, shiny, slimy, flat or convex, then separated as pure cultures of *P. stewartii* candidates. The culture was then tested by Gram Reaction (KOH test), Hugh-Leifson test, pigment production in YDC medium, oxidase test, hypersensitivity test, and pathogenicity test on maize.

Isolation and characterization of endophytic bacteria

Sampling for the isolation of endophytic bacteria was carried out in Banyumas and Purbalingga, Central Java, Indonesia, with purposive stratified random sampling. Samples were taken from two areas of altitude, i.e., low-moderate lands (0-500 m above sea level), and highlands (> 500 m above sea level) (Nuryanto et al., 2014). In each district, 2 locations were selected for the low-medium lands, and 1 location for the highlands. Age of maize plants was 20-30 days after planting, when the number of endophytic microbial populations that can be cultured is in the highest population (Cavaglieri et al. 2009).

The endophytic bacteria were isolated from the roots and stems of healthy maize plants. Roots and stems were washed, sterilized with 70% ethanol (1 minute), 20% sodium hypochlorite (5 minutes) and Ringer's thiosulfate solution (5 minutes). Separately, the roots and stems of 10 g each were crushed with 90 ml PBS on a sterile mortar. Subsequently, samples were plated on NA and Kings B media (Cavaglieri et al. 2009). To isolate *Bacillus* sp., the suspension was heated for 10 minutes at 80 ° C, before plating on NA. Bacterial isolates were further purified and characterized, such as morphological characteristics, gram properties, catalase tests, and hypersensitivity tests

The antagonism test of endophytic bacterial to *Rhizoctonia solani*

The antagonism test of endophytic bacteria on *R. solani* was carried out using the dual culture method. The level of inhibition of antagonist is calculated using the formula (Abidin et al. 2015).

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

Where:

I : The level of inhibition of antagonist (%)

C: The radius of pathogen colonies opposite antagonist

T: The radius of the colony of pathogens towards antagonist

The antagonism test of endophytic bacterial to *Pantoea* sp.

Antagonism testing was carried out using the double-layer test method (Santiago et al. 2015). Endophytic bacteria to be tested were grown on the nutrient agar medium, incubated at 28 C for 48 hours. In the upside-down position, 1 ml of chloroform was added to the cup lid and left for 2 hours. Next, add 5 mL so that 0.6% water containing 0.5 mL of *Pantoea* sp. bacterial suspension. The culture was re-incubated for 24 hours, and there were clear zones around the antagonistic bacterial colony. The antibiotic activity was assessed based on the diameter of the clear zone compared to the diameter of the colony. Characterization of the type of antibiosis can be divided into bactericidal and bacteriostatic types based on Djatmiko et al. (2007).

The mechanism test of endophytic bacteria as controlling agents biological and plant growth-promoting microbial

The testing mechanism of endophytic bacteria was carried out for bacteria that have the potential in testing the antagonism of the fungus *R. solani* and *Pantoea* sp.

Protease test

The activity of the ability of antagonistic bacteria to produce extracellular protease enzymes was tested using Skim Milk Agar (SMA) medium. Each bacterium to be tested was grown in a medium SMA and incubated at 28 C for 24-48 hours. The presence of clear zones around the colony shows that positive bacteria produce protease enzymes (Abed et al. 2016). The protease activity index is assessed based on the diameter of the clear zone compared to the diameter of the colony.

$$\text{Protease index} = \frac{(\text{clear zone diameter} - \text{colony diameter})}{\text{Colony diameter}}$$

Lipase test

Detection of the ability of bacteria to produce the enzyme lipase was done by growing the antagonistic bacteria on a medium containing 1% Tween 80. The presence of lipase enzyme activity was demonstrated by milky white sediment around the bacterial colony, after incubating at 28 C for 4-7 days. The lipolytic index was measured using a formula Djuric et al. (2011).

$$\text{Lipolytic index} = \frac{(\text{Milky white diameter} - \text{colony diameter})}{\text{Colony diameter}}$$

Phosphatase test

Detection of the ability of bacteria to produce the enzyme phosphatase was done by growing bacterial isolates on Pikovskaya medium. After incubating for 7 days at 28 °C, the presence of a clear zone around the bacterial colony shows that the bacteria has the ability to produce the phosphatase enzyme to dissolve phosphates. The solubility index is measured using a formula (Farooq and Bano 2013)

$$\text{Phosphatase Index} = \frac{(\text{Clear zone diameter} - \text{Colony diameter})}{\text{Colony diameter}}$$

RESULTS AND DISCUSSION

Isolation and characterization of endophytic bacteria

The results of the exploration, isolation, and characterization of endophytic bacteria obtained 23 isolates of endophytic bacteria, consisted of 9 isolates of the fluorescent *Pseudomonas* and 14 isolates of *Bacillus* sp. (Table 1). Fluorescent *Pseudomonas* colony on King's B was round, with a flat edge, and yellowish-white, to greenish-yellow, gram-negative, rod-shaped, non-spore and fluorescent under ultraviolet light. Singh et al. 2017 reported fluorescent *Pseudomonas* showed light green, yellowish, creamy, circular, slimy, regular-irregular characteristics. Bacteria have short-long rod forms. The Fluorescent *Pseudomonas* isolates is gram-negative, which can form catalase, a positive oxidase, needed to grow aerobes. *Bacillus* sp. was observed with a spherical colony having cell rod-shaped, gram-positive, and endospores within cells (Table 1.). Slepecky and Hempill (2006); Amin et al. (2015) reported *Bacillus* sp. has the characteristics of a circular colony and punctiform (small round), variations in the entire margin and lobate, white dull, non-slimy, gram-positive, has endospores, flagellum and some are motile.

Based on its distribution, fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* sp. found in all sampling locations, high or low-medium lands. This shows that fluorescent *Pseudomonas* and *Bacillus* sp. spread and can live in various altitudes, both high and low-medium land. Bacon and Hilton 2002; Ganeshan and Kumar 2005 reported *P. fluorescens* and *Bacillus* sp., are species of bacteria with a wide range of life and are very adaptive in various environments. Both types of bacteria are also found in the roots or corn stalks. *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. including a group of endophytic bacteria have a wide range of life and more

isolated in maize (Ganeshan and Kumar 2005; Orole and Adejumo 2011; Costa et al. 2013)

Antagonism test between the endophytic bacteria against *R. solani*

Based on the results of *in vitro* tests (Table 2), 24 isolates of the endophytic bacteria were able to inhibit the growth of *R. solani*, with varying degrees of inhibition. The endophytic bacteria that have inhibition rates above 50%, i.e. fluorescent *Pseudomonas* BK.A1 (51%), *Bacillus* sp. B.K.A1 (55.39%), *Bacillus* sp. BK.A3 (51.52%), PP.A5 (50.66%), and PPD.B2 (50.8%). The effect of the endophytic bacteria in inhibiting the growth of *R. solani* is inversely proportional to the dry weight mycelium. The greater the percentage of inhibition of endophytic bacteria to the growth of *R. solani*, the smaller the dry weight mycelium (Table 2). Endophytic bacteria can inhibit the growth of *R. solani*, which were shown by the inhibitory zone in the area bordering the bacterial streak (Figure 1.A). The endophytic bacteria have anti-pathogenic properties and can produce antibiotic compounds. The ability of the endophytic bacteria to control plant pathogens occurs through the mechanism of antibiosis, competition, lysis, inducing resistance and producing growth substances. Bacteria capable of producing secondary metabolites that can inhibit growth or damage pathogens (Hastuti et al. 2014). These compounds, including alkaloids, phenols, flavonoids, glycosides, and phytoalexin (Soesanto et al. 2010). Fluorescent *Pseudomonas* can produce various types of antibiotics including phenazine-1-carboxylic acid, pyocyanin, pyrrolnitrin, and pyoluteorin, 2,4-diacetyl phloroglucinol (Phl). Phl is a phenolic metabolite with antibacterial and antifungal (Jain and Das 2016). *Bacillus* species can produce various kinds of volatile compounds and diffusible with strong inhibitory activity against plant pathogens (Lim et al. 2017).

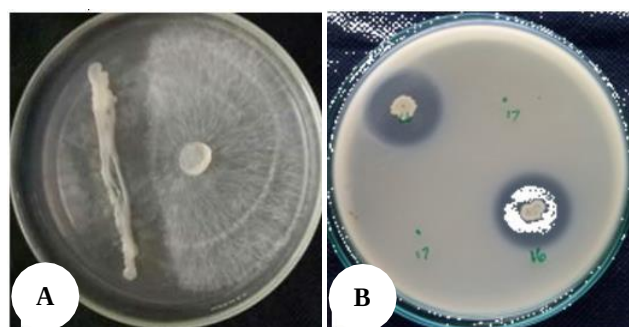


Figure 1. Antagonism test between the endophytic bacteria against *R. solani* (A) and *Pantoea* sp. (B)

Table 1. Isolation and characterization of endophytic bacteria.

Land	Sampling location	Sample	Gram test	Catalase test	Oxidase test	Colony morphology	Colony pigment	Fluorescence on KB medium	Cell morphology	Endo-spores	Isolate
Highland	Purbalingga, Pratin 7.13'33" S, 109.17'21" E, 1.190 m asl	Root	-	+	+	Round	yellowish-white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP.A1
		Root	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PP.A3
		Root	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PP.A5
		Stem	-	+	+	Round	yellowish-white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP. B4
	Banyumas, Baturaden 7.19'1" S, 109.14'29" E, 520 m asl	Root	-	+	+	Round	Greenish-yellow	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> BB.A2
		Root	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BB.A3
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BB.B4
	Banyumas, Sumbang 7.21'54" S, 109.17'33"E, 200 m asl	Root	-	+	+	Round	yellowish-white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> BS.A2
		Root	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BS.A1
		Root	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BS.A3
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BS. B1
	Purbalingga, Bojongsari 7.20'12" S, 109.20'22" E, 190 m asl	Root	-	+	+	Round	Greenish-yellow	+	Small rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PB. A 4
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PB. B1
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BB. B3
	Purbalingga, Padamara 7.22'28" S, 109.13'24" E, 180 m asl	Root	-	+	+	Round	Greenish-yellow	+	Small rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD A1
		Stem	-	+	+	Round	yellowish white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD. B1
		Stem	-	+	+	Round	yellowish-white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD. B5
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PPD. B2
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PPD. B4
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Small rod	+	<i>Bacillus</i> sp. PPD. B4
Medium-Lowland	Banyumas, Kembaran 7.23'47" S, 109.17'9" E, 110 m asl	Root	-	+	+	Round	yellowish-white	+	Medium rod	-	fluorescent <i>Pseudomonas</i> BK. A1
		Root	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BK.A1
		Root	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BK.A3
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BK.B3
		Stem	+	+	+	Round	White	-	Medium rod	+	<i>Bacillus</i> sp. BK.B3

Table 2. Inhibition of endophytic bacteria against *R. solani*.

Isolate	Inhibition rate (%)	Dry weight mycelium
Control	0	0.093
Endophytic bacteria from the root		
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BB.A2	49.00	0.038
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BS.A 2	45.00	0.027
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BK.A1	51.00	0.017
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.A1	10.33	0.059
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP.A1	38.33	0.017
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PB.A4	18.00	0.037
<i>Bacillus</i> sp.BB.A3	40.42	0.030
<i>Bacillus</i> sp.BS.A1	48.73	0.016
<i>Bacillus</i> sp. BSA3	37.42	0.039
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A1	55.39	0.002
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A3	51.52	0.003
<i>Bacillus</i> sp.PP.A3	46.65	0.019
<i>Bacillus</i> sp.PP.A5	50.66	0.009
Endophytic bacteria from the stem		
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.B1	27.00	0.020
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.B5	49.33	0.013
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP.B4	65.67	0.004
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	44.44	0.026
<i>Bacillus</i> sp. BS.B1	49.74	0.012
<i>Bacillus</i> sp. BK. B3	40.36	0.031
<i>Bacillus</i> sp.PPD.B2	50.8	0.007
<i>Bacillus</i> sp. PPD.B4	39.44	0.036
<i>Bacillus</i> sp. PB.B1	37.29	0.047
<i>Bacillus</i> sp. PB.B3	44.9	0.022

The endophytic bacterial antagonism test against *Pantoea* sp.

The results of antagonism between the endophytic bacteria and *Pantoea* sp. show varied results. The endophytic bacteria that can inhibit bacterial growth were indicated by the presence of clear zones around the endophytic bacterial colonies (Figure1). From the nine isolate fluorescent, *Pseudomonas* were tested, only three isolates were able to inhibit the growth of the *Pantoea* sp., i.e fluorescent *Pseudomonas* (Pf) BS.A2, Pf BK.A1 Pf PPD.B5. While the isolates Pf BB.A2, Pf PPD.A1, Pf PP.A1, Pf PPD.B1, and Pf PP.B4 are not able to inhibit the growth of pathogenic bacteria. Meanwhile, all isolate *Bacillus* sp. tested (thirteen isolates) were able to inhibit the growth of *Pantoea* sp. (Table 3).

The presence of clear zones around endophytic bacterial colonies showed the ability of endophytic bacteria to produce antibiotics to inhibit the growth of *Pantoea* sp. *P. fluorescens* P60 can produce antibiotics that inhibit the growth of pathogens (Soesanto 2011). *Pseudomonas fluorescens* is reported to produce phenazine-1-carboxylic acid (PCA) and other derivatives, 2,4 diacetyl phloroglucinol (Phl)), pyrrolnitrin (PRN) and or pyoluteorin (Plt) (Heydari and Pessarakli 2010). Nasrun and Burhanudin (2016) mention that *P. fluorescens* produce secondary metabolites, i.e. antimicrobial, cyanide acid and 2,4-diacetyl phloroglucinol phenazine, pyrrolnitrin, pyoluteorin antibiotics.

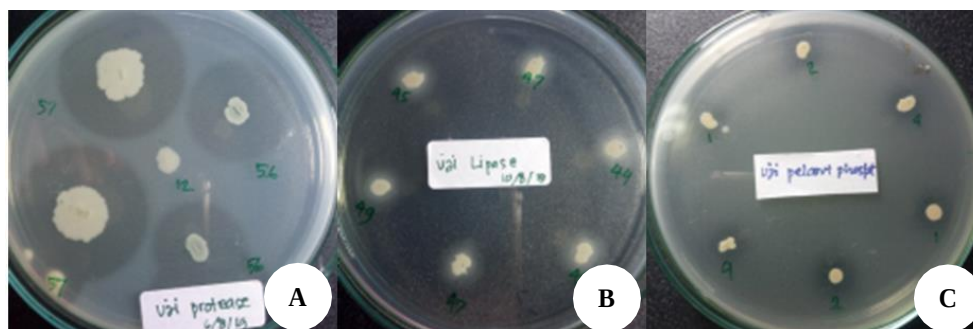
Table 3. Inhibition of endophytic bacteria against *Pantoea* sp.

Isolate	Antagonism	Antagonism index	Antagonism category*	Antagonism activity
Endophytic bacteria from the root				
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BB.A2	-	0	-	-
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BS.A 2	+	4.91	Strong	Bacteriostatic
fluorescent <i>Pseudomonas</i> BK.A1	+	4.42	Strong	Bacteriostatic
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.A1	-	0	-	-
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP.A1	-	0	-	-
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PB.A4	+	5.29	Strong	Bactericidal
<i>Bacillus</i> sp.BB.A3	+	8.17	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp.BS.A1	+	4.00	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. BSA3	+	5.07	Strong	Bactericidal
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A1	+	4.01	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A3	+	4.91	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp.PP.A3	+	6.63	Strong	Bactericidal
<i>Bacillus</i> sp.PP.A5	+	6.56	Strong	Bactericidal
Endophytic bacteria from the stem				
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.B1	-	0	-	-
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PPD.B5	+	5.86	Strong	Bactericidal
fluorescent <i>Pseudomonas</i> PP.B4	-	0	-	-
<i>Bacillus</i> sp. BB.B4	+	7.80	Strong	Bactericidal
<i>Bacillus</i> sp. BS.B1	+	6.22	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. BK. B3	+	5.33	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp.PPD.B2	+	5.00	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. PPD.B4	+	8.75	Strong	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. PB.B1	+	1.67	Weak	Bacteriostatic
<i>Bacillus</i> sp. PB.B3	+	5.67	Strong	Bactericidal

Note: *Based on Davis and Stout (1971)

Table 4. Test results of proteases, lipases and phosphate solubilization

Isolate	Protease test		Lipase test		Phosphate solubilization	
	Activity	Index	Activity	Index	Activity	Index
Endophytic bacteria from the root						
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A1	+	3.75	+	3.23	+	1.17
<i>Bacillus</i> sp. B.K.A3	+	3.20	+	3.73	+	1.27
<i>Bacillus</i> sp. PP.A5	+	5.00	+	4.40	+	1.46
Endophytic bacteria from the stem						
<i>Bacillus</i> sp.PPD.B2	+	3.00	+	3.90	+	2.60

**Figure 2.** Hydrolysis enzyme activity, (A) protease, (B) lipase and (C) phosphate solubilization

The level of bacteria's ability to inhibit growth can be shown by the large diameter of the clear zone. The results showed that the antagonism index ranged from 1.67-8.17. Based on this index, most endophytic bacteria have a strong antagonism (index of antagonism > 4) (Davis and Stout 1971). Furthermore, bacterial isolates that showed antagonistic activity were tested for types of antagonism based on Djatmiko (2007). Based on the type of antagonistic activity, ten isolates the endophytic bacteria were bacteriostatic and nine isolates the endophytic bacteria were bactericidal. Bacteriostatic activity, growth inhibition is temporary, it is shown that regrowth of bacteria after being transferred to a new medium, which is free from the influence of antagonistic bacteria. Bactericidal activity, inhibition is permanent. Bacteria were unable to grow even though they are transferred to new medium.

Test the mechanism of endophytic bacteria as biological control agents and plant growth-promoting microbes

The mechanism test was carried out on endophytic bacteria that have the potential to control the fungus *R. solani* and *Pantoea* sp., i.e. *Bacillus* sp. B.K.A1, *Bacillus* sp. B.K.A3, *Bacillus* sp. PP.A5, *Bacillus* sp. PPD.B2. The production of compounds related to biocontrol of pathogens and promotion of plant growth in bacterial isolates was evaluated by measuring the production of antimicrobial compounds and hydrolytic enzymes (amylases, lipases, proteases, and chitinases) and phosphate solubilization. The results of enzyme activity tests are as shown in Table 4. The four isolates *Bacillus* sp. tested were able to produce protease, lipase and phosphatase enzymes, with varied activity indexes. All isolates of *Bacillus* sp.

those tested had a high index of protease and lipase enzymes (> 3) (Table 4, Figure 2). Protease and lipase enzymes, related to the ability of the endophytic bacteria as biological control agents. Based on the protease and lipase indexes, *Bacillus* sp. PP.A5 can produce the highest proteases and lipase enzymes compared to other isolates. The isolates that have high protein and fat hydrolysis enzymes have the potential as biological control agents because proteins and fats are constituents of pathogen cells (Mota et al 2016). Besides, the protease enzyme is thought to degrade antibiotics produced by fungal or bacterial pathogens. According to Anderson et al. (2014), the extracellular protease enzyme produced by *P. fluorescens* can inactivate antibiotic compounds produced by *Pantoea agglomerans*.

Bacillus sp. PPD.B2 has the highest phosphate solubility index. The phosphate solubilization is related to the ability of endophytic bacteria as a plant growth promoter, providing phosphates for plants. Microbes with high phosphate solubility activity are capable of producing and releasing metabolites such as organic acids that chelate cations that are bound to phosphate (especially calcium) and converting them into soluble forms. Solubilization of different forms of phosphate by microbes associated with plants, and increasing its availability for plants, will increase growth and production of the plant (Djuric et al., 2011).

In conclusion, based on research carried out, it has been successfully isolated, morphologically and biochemically characterized four the endophytic bacteria that have the potential to be developed as biopesticides to control maize disease, especially *R. solani* and *Pantoea* sp. They can suppress the growth of *R.solani* by more than 50%, have a

strong antagonistic index against *Pantoea* sp (> 4), and can produce protease and lipase enzyme, and phosphate solubilization.

ACKNOWLEDGEMENTS

This research was a part of the main study funded by Doctoral Dissertation Grant from the Indonesian Ministry of Research, Technology and Higher Education; for that, I deeply thank for the financial support.

REFERENCES

- Abed HN, Rouag N, Mouatassef D, Rouabhi A. 2016. Screening for *Pseudomonas* and *Bacillus* antagonistic rhizobacteria strains for the biocontrol of fusarium wilt of chickpea. *Eurasian J Soil Sci* 5 (3): 182-191.
- Abidin Z, Aini LQ, Abadi AL. 2015. Effect of *Bacillus* sp. and *Pseudomonas* sp. On the growth of the pathogenic fungus *Sclerotium rolfsii* Sacc. causes of seedling diseases in soybean plants. *Jurnal HPT* 3 (1): 1-10.
- Aini LQ, Suryani L, Sugiharto AN, Abadi A. 2013. Identification of bacterial wilt and leaf blight disease on maize (*Zea Mays*) found in Kediri, Indonesia. *Agrivita* 35 (1): 1-7.
- Al-Fadhil FA, AL-Abedy AN, Alkhafijel DA. 2019. Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their control feasibility by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Egypt J Biol Pest Control* 29 (47): 1-11. DOI: 10.1186/s41938-019-0145-5
- Amin M, Rakhisi Z, Ahmady AZ. 2015. Isolation and Identification of *Bacillus* Species From Soil and Evaluation of Their Antibacterial Properties. *Avicenna J Clin Microb Infec* 2 (1): e23233. DOI: 10.17795/ajcmi-23233.
- Ammar, E, Correa VR, Hogenhout SA, Redinbaugh MG. 2014. Immunofluorescence localization and ultrastructure of Stewart's wilt disease bacterium *Pantoea stewartii* in maize leaves and in its flea beetle vector *Chaetocnema pulicaria* (Coleoptera: Chrysomelidae). *J Microsc Ultrastructure* 2: 28-33.
- Anderson LM, Stockwell VO, Loper JE. 2004. An extracellular protease of *Pseudomonas fluorescens* inactivates antibiotics of *Pantoea agglomerans*. *Phytopathology* 94: 1228-1234
- Bacon CW, Hinton DM. 2002. Endophytic and Biological Control Potential Of *Bacillus Mojavensis* And Related Species. *Biol Control* 23: 274-284.
- Cavaglieri L, Orlando J, Etcheverry M. 2009. Rhizosphere microbial community structure at different maize plant growth stages and root locations. *Microbiol Res* 164 (4): 391-399.
- Compant SB, Duffy, Nowak J, Clement C, Barka EA. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanism of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol* 71 (9): 4951-4959.
- Coplin DL, Redinbaugh MG. 2012. The bacterium *Pantoea stewartii* uses two different Type III secretion systems to colonize its plant host and insect vector. *Appl Environ Microbiol* 78 (17): 6327-6336.
- Costa FG, Zucchi TD, de Melo IS. 2013. Biological control of phytopathogenic fungi by endophytic actinomycetes isolated from maize (*Zea mays* L.). *Braz. Arch Biol Technol* 56 (6): 948-955.
- Davis WW, Stout TR. 1971. Disc plate methods of microbiological antibiotic assay. *Appl Microbiol* 22 (4): 659-665.
- Desi Y, Habazar T, Agustian, Khairul U, Syamsuwirman, Novia P. 2014. Morphological dan physiological characterization of *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* from maize. *Jurnal Fotopatologi Indonesia* 10 (2): 45-52. DOI: 10.14692/jfi.10.2.45. [Indonesian]
- Djaenuddin N, Nonci N, Muis A. 2017. Effectiveness of the formula *Bacillus subtilis* TM4 for disease control in maize plants. *Jurnal Fitopatologi Indonesia* 13 (4): 113-118. [Indonesian]
- Djarmiko HA, Arwiyanto T, Hadisutrisno B, Sunarminto BH. 2007. Potential of three bacterial genera from three plant rhizosphere as biological agents controlling Lincat disease. *Jurnal ilmu-ilmu Pertanian* 9 (1): 40-47. [Indonesian]
- Djuric S, Pavic A, Jarak M, Pavlovic S, Starovic M, Pivic R, Josic D. 2011. Selection of indigenous fluorescent pseudomonad isolates from maize rhizospheric soil in Vojvodina as possible PGPR. *Romanian Biotechnol Lett* 16 (5): 6580-6590. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0113-01.
- Farooq U, Bano A. 2013. Screening of indigenous bacteria from rhizosphere of maize (*Zea mays* L.) for their plant growth promotion ability and antagonism against fungal and bacterial pathogens. *J Anim Plant Sci* 23 (6): 1642-1652.
- Ganeshan G, Kumar AM. 2005. *Pseudomonas fluorescens*, a potential bacterial antagonist to control plant diseases. *J Plant Interact* 1 (3): 123-134.
- Hastuti RD, Saraswati R, Sari AP. 2014. The effectiveness of the endophytic microbes in promoting plant growth and controlling leaf blight disease in the lowland rice. *Jurnal Tanah dan Iklim* 38 (2): 109-118. [Indonesian]
- Heydari A, Pessarakhi M. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. *J Biol Sci* 10 (4): 273-290
- Jain A, Das S. 2016. Insight into the interaction between plants and associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Intl J Agron*. DOI: 10.1155/2016/4269010
- Lim SM, Yoon M, Choi GJ, Choi YH, Jang KS, Shin TS, Park HW, Yu NH, Kim YH, Kim J. 2017. Diffusible and volatile antifungal compounds produced by an antagonistic *Bacillus velezensis* G341 against various phytopathogenic fungi. *Plant Pathol J* 33 (5): 488-498. DOI: 10.5423/PPJ.OA.04.2017.0073
- Motaa MS, Gomes CB, Júnior ITS, Moura AB. 2017. Bacterial selection for biological control of plant disease: criterion determination and validation. *Braz J Microbiol* 48: 62-70
- Muis A. 2007. Management of sheath blight disease (*Rhizoctonia solani* Kuhn.) in maize. *Jurnal Litbang Pertanian* 26 (3): 100-103 Desi 2014 [Indonesian]
- Nasrun, Burhanudin. 2016. Evaluation of the efficacy of the formula *Pseudomonas fluorescens* for controlling bacterial wilt (*Ralstonia solanacearum*) patchouli. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah dan Obat*, 27 (1): 67-76. [Indonesian]
- Nuryanto B, Priyatmojo A, Hadisutrisno B. 2014. Pengaruh tinggi tempat dan tipe tanaman padi terhadap keparahan penyakit hawar pelepah. *Penelitian Pertanian Tanaman Pangan* 33 (1): 1-8. [Indonesian]
- Orole OO, Adejumo TO. 2011. Bacterial and fungal endophytes associated with grains and roots of maize. *J Ecol Nat Environ* 3 (9): 298-303.
- Pal KK, McSpadden-Gardener B. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02
- Pataky JK. 2004. Stewart's wilt of corn. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2004-0113-01.
- Rosenbluth M, Martinez-Romero E. 2006. Bacterial endophytes and their interaction with hosts (Review). *Mol Plant Microbe Interact* 19 (8): 827-837.
- Santiago TR, Grabowski C, Rossato M, Romeiroa RS, Mizubuti ESG. 2015. Biological control of eucalyptus bacterial wilt with rhizobacteria. *Biol Contr* 80: 14-22. DOI: 10.1016/j.biocontrol.2014.09.007.
- Shanti AT, Vittal RR. 2013. Biocontrol potencies of plant growth promoting rhizobacteria against *Fusarium* wilt disease of cucurbit. *J Plant Pathol* 2 (3): 155-161.
- Singh S, Dutta U, Bhat AK, Gupta S, Gupta V, Jamwal S. 2017. Morphological and biochemical identification of *Pseudomonas* sp. isolated from the rhizosphere of different vegetable crops and study its efficacy on *Solanum melongena* (Brinjal). *J Pharmacogn Phytochem* 6 (2): 22-28
- Slepecky R.A., Hemphill H.E. 2006. The Genus *Bacillus*—Nonmedical. In: Dworkin M, Falkow S, Rosenberg E, Schleifer KH, Stackebrandt E. (eds.). *The Prokaryotes*. Springer, New York.
- Soesanto L, Mugiausti E, Rahayuniati RF. 2010. Study of the antagonistic mechanism of *Pseudomonas fluorescens* P60 against *Fusarium oxysporum* f.sp. *Lycopersici* in tomatoes in vivo. *Jurnal HPT Tropika* 10 (2): 108-115
- Soesanto L, Mugiausti E, Rahayuniati RF. 2011. Utilization of some animal broths as a liquid formula for *Pseudomonas fluorescens* P60 to control *Sclerotium rolfsii* in cucumber plants. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia* 17 (1): 7-17.