

## **Formulasi Bakteri Filosfer Padi dan Aplikasinya untuk Mengendalikan Penyakit Hawar Daun Bakteri**

### **Formulation of Rice Phyllosphere Bacteria and Their Application to Control Bacterial Leaf Blight Disease**

**Siska Tridesianti<sup>1</sup>, Alina Akhdiya<sup>2</sup>, Aris Tri Wahyudi<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Institut Pertanian Bogor, Bogor, 16680

<sup>2</sup>Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Bogor, 16111

#### **ABSTRAK**

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan bakteri penyebab penyakit hawar daun bakteri (HDB) pada tanaman padi. Bakteri ini dapat menyerang setiap stadia pertumbuhan tanaman padi sehingga mengakibatkan penurunan produksi padi. Pada penelitian sebelumnya telah berhasil diisolasi bakteri filofosfer padi nonpatogen anti *X. oryzae* pv. *oryzae*. Penelitian bertujuan untuk memformulasi bakteri filofosfer dan menguji efektivitas formula dalam mengendalikan HDB di rumah kaca. Penggunaan tiga jenis medium, yaitu kaldu kentang, susu skim molase, dan ekstrak bekatul menunjukkan bahwa kaldu kentang merupakan medium terbaik untuk memperbanyak biomassa sel. Formulasi bakteri filofosfer dilakukan menggunakan bahan pembawa utama talk dengan kerapatan sel sekitar  $10^9$  cfu g<sup>-1</sup> bahan pembawa. Aplikasi 8 formula pada tanaman padi varietas IR64 menghasilkan 4 formula terbaik dalam mengendalikan HDB, yaitu BFV 60, BFF 69, BFR 203, dan BFR 153 yang masing-masing mampu mengurangi insidensi penyakit HDB sebesar 40.73%, 39.72%, 39.26%, dan 28.07%.

Kata kunci: bahan pembawa, efektivitas formula, insidensi penyakit, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

#### **ABSTRACT**

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is a casual agent of bacterial leaf blight disease (BLB) of rice. The disease can infect every phases of plant growth and can reduce rice production. In the previous study we have isolated nonpathogenic phyllosphere bacteria against *X. oryzae* pv. *oryzae*. For further study, in the present work we developed the formulation of the phyllosphere bacteria and tested their effectiveness against BLB in greenhouse trials. Out of three alternative medium used in culturing bacterial cell biomass, it was revealed that potato broth served as the best medium in comparison with skim milk molasses and bran extract. Formulation of phyllosphere bacteria was conducted by using of talc as main carrier, i.e. approximately  $10^9$  cfu g<sup>-1</sup> of main carrier. Application of the formula on rice leaves indicated that BFV 60, BFF 69, BFR 203 and BFR 153 were the best formula for controlling BLB and were able to reduce disease incidence up to 40.73%, 39.72%, 39.26%, and 28.07%, respectively.

Key words: disease incidence, formula effectiveness, main carrier, *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*

\*Alamat penulis korespondensi: Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor. Jalan Agatis, Kampus Dramaga IPB, Bogor 16680  
Tel: +62251-8622833, Faks: +62251-8622833, Surel: aristri2011@gmail.com

## PENDAHULUAN

*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* merupakan bakteri penyebab penyakit hawar daun bakteri (HDB) yang dapat menurunkan produksi padi secara kualitas maupun kuantitas. Produksi padi menurun hingga 65–95% di India akibat serangan penyakit HDB (Nayak *et al.* 2008). Pengendalian HDB umumnya dilakukan dengan menggunakan bakterisida dan padi varietas tahan. Namun, penggunaan bakterisida yang berlebihan berdampak negatif terhadap lingkungan dan menginduksi resistensi *X. oryzae* pv. *oryzae*. Selain itu, pengembangan teknologi untuk menghasilkan varietas tahan *X. oryzae* pv. *oryzae* membutuhkan waktu yang lama. Oleh karena itu, pengembangan agens hayati sebagai biokontrol merupakan salah satu alternatif dalam pengendalian penyakit HDB.

Delapan isolat bakteri nonpatogen yang memiliki kemampuan antagonisme terhadap *X. oryzae* pv. *oryzae* (anti-Xoo) telah berhasil diisolasi dari filosfer padi (Krishanti *et al.* 2015; Nurfitriani 2014). Pengembangan teknologi berupa pembuatan medium alternatif dan teknologi formulasi ke dalam bahan pembawa diperlukan untuk aplikasi 8 isolat bakteri tersebut dalam skala besar. Medium alternatif yang digunakan harus mencukupi kebutuhan nutrisi untuk pertumbuhan bakteri filosfer. Medium alternatif terbaik merupakan medium yang mampu menghasilkan biomassa sel tertinggi dalam waktu inkubasi tercepat. Bahan pembawa tersebut dapat berfungsi untuk melindungi sel bakteri selama masa penyimpanan sehingga tetap efektif ketika digunakan.

Formulasi bakteri konsorsium *talc-A5* yang disemprot langsung pada tanaman padi efektif mereduksi penyakit HDB sebesar 45.76%, tetapi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap hasil produksi padi dibandingkan dengan kontrol pada penelitian lapangan (Suryadi *et al.* 2013). Selain itu, formulasi *Pseudomonas fluorescens* Rbb-11 dengan bahan pembawa talek yang diaplikasi pada biji padi mampu mereduksi penyakit HDB sebesar 84% dan meningkatkan hasil

produksi padi hingga 51.45% (Jambhulkar dan Sharma 2013). Tujuan dari penelitian ini ialah membuat dan menguji formulasi bakteri filosfer untuk mengendalikan HDB di rumah kaca.

## BAHAN DAN METODE

Bakteri filosfer merupakan stok kultur dari Laboratorium Penelitian Mikrobiologi Departemen Biologi, FMIPA, IPB, sebagai hasil penelitian sebelumnya. Kode isolat tersebut adalah: BFF (69, 75, 84), BFR (153, 183, 217, 203), dan BFV 60 (Krishanti *et al.* 2015; Nurfitriani 2014). Bakteri *X. oryzae* pv. *oryzae* yang digunakan merupakan stok kultur dari Balai Besar Bioteknologi dan Sumber Daya Genetis Pertanian Indonesia (BB Biogen), yaitu isolat Xoo 8004. Semua isolat bakteri secara rutin dikulturkan pada medium *luria bertani agar* (LA) (Trypton 10 gL<sup>-1</sup>, NaCl 10 gL<sup>-1</sup>, ekstrak khamir 5 gL<sup>-1</sup> dan agar-agar 2%) pada suhu ruang.

### Bioasai Aktivitas Penghambatan Bakteri Filosfer terhadap Xoo 8004

Aktivitas penghambatan bakteri filosfer terhadap Xoo 8004 dilakukan dengan metode *streak plate* (Lisboa *et al.* 2006). Kultur bakteri filosfer (24 jam) disentuhkan pada medium LA yang telah diinokulasi dengan 1% (v/v) Xoo 8004 dengan *optical density* (OD) 0.6–0.8.

Aktivitas penghambatan bakteri filosfer terhadap Xoo 8004 dihitung dengan rumus:

$$\text{Indeks penghambatan} = \frac{(a + b) - b}{b}, \text{ dengan}$$

a, diameter zona bening dan; b, diameter koloni.

### Optimasi Medium Alternatif sebagai Medium Perbanyak Biomassa Sel Bakteri Filosfer

Tiga jenis medium yang digunakan adalah kaldu kentang/PDB (kentang 200 g L<sup>-1</sup>, gula 20 g L<sup>-1</sup> dalam 1 L air), susu skim molase/SKM (8 g L<sup>-1</sup> susu skim, 15 mL L<sup>-1</sup> molase, 1.5 g L<sup>-1</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1.5 g L<sup>-1</sup> MgSO<sub>4</sub> dalam 1 L air), dan ekstrak bekatul (10 g dalam 1 L air). Kultur bakteri pada medium LA (24 jam)

diinokulasikan ke dalam medium *luria bertani broth* (LB) selama 6 jam ( $10^8$  cfu mL<sup>-1</sup>), kemudian masing-masing 1% (v/v) kultur bakteri filosfer pada medium LB diinokulasikan ke dalam 50 mL medium alternatif cair dan diinkubasi dalam inkubator bergoyang (120 rpm,  $\pm 27$  °C) hingga mencapai populasi sel  $10^8$  cfu mL<sup>-1</sup>. Penghitungan populasi sel menggunakan metode *total plate count* (TPC) dengan pengenceran berseri.

Medium terbaik dalam memproduksi biomassa sel digunakan sebagai medium perbanyak biomassa sel bakteri filosfer. Pemanenan biomassa sel dilakukan sesuai kurva tumbuh masing-masing bakteri filosfer. Kurva pertumbuhan bakteri filosfer dilakukan dengan menghitung populasi sel per 3 jam dengan menggunakan hemasitometer. Kultur bakteri filosfer pada medium LB ( $10^8$  cfu mL<sup>-1</sup>) masing-masing sebanyak 1% (v/v) diinokulasikan ke dalam 200 mL medium alternatif terbaik dan diinkubasi dalam inkubator bergoyang (120 rpm,  $\pm 27$ °C) selama 48 jam.

### Formulasi Bakteri Filosfer dalam Bahan Pembawa

Formulasi dilakukan dalam bahan pembawa talek dengan campuran *carboxymethyl cellulose* (CMC) dan CaCO<sub>3</sub> yang disterilisasi sebanyak 3 kali (121 atm,  $\pm 20$  menit) (Ardakani *et al.* 2009). Kultur bakteri filosfer sebanyak 200 mL dihomogenkan dengan bahan pembawa steril (500 g talek, 5 g CMC dan 7.5 g CaCO<sub>3</sub>) kemudian dikeringanginkan semalaman di dalam laminar. Penghitungan biomassa sel bakteri filosfer dan kadar air bahan pembawa dilakukan setelah formulasi dikeringanginkan semalaman. Penghitungan biomassa sel menggunakan metode TPC dan kadar air dengan metode pengeringan menggunakan oven.

Cawan kosong dikeringkan dalam oven selama  $\pm 15$  menit, lalu didinginkan dan ditimbang sebagai berat cawan kosong. Sebanyak  $\pm 2$  g sampel formulasi (berat basah formulasi) dimasukkan ke dalam cawan dan dioven pada suhu 105°C hingga berat konstan, lalu didinginkan dan ditimbang sebagai berat

kering formulasi. Kadar air formulasi dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(C - D)}{C} \times 100\%, \text{ dengan}$$

C, bobot basah formulasi dan; D, bobot kering formulasi (AOAC 1996).

### Uji Aplikasi Formula Bakteri terhadap Xoo 8004 di Rumah Kaca

Aplikasi formula bakteri filosfer di rumah kaca disusun menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dengan 8 perlakuan dan 3 kontrol yang diulang sebanyak 5 kali. Uji aplikasi formula terhadap Xoo 8004 dilakukan pada padi varietas IR64. Benih padi IR64 disterilisasi permukaannya menggunakan Natrium-hipoklorit 2% selama 2 menit kemudian dibilas 5 kali dengan akuades steril masing-masing selama 3 menit. Benih yang tenggelam dipilih untuk dikecambahkan dalam *growth chamber* selama 3 hari dalam ruang gelap lalu ditumbuhkan pada medium persemaian selama 14 hari. Bibit padi berumur 14 hari dipindahkan ke dalam pot berdiameter 30 cm berisi campuran tanah, pupuk kandang, dan NPK (12:5:1). Masing-masing pot ditanami 3 rumpun bibit padi.

Aplikasi formula bakteri filosfer 3% (v/v) dilakukan dengan cara penyemprotan ke tanaman padi IR64 saat berumur 7 dan 14 hari setelah tanam (HST). Tanaman kontrol negatif disemprotkan dengan akuades steril dan larutan talek steril pada 7 dan 14 HST. Tanaman kontrol positif disemprot dengan suspensi Xoo 8004 ( $10^6$ – $10^8$  cfu mL<sup>-1</sup>) pada 17 HST. Pengamatan gejala penyakit HDB dilakukan pada 3, 7, dan 14 hari setelah inokulasi Xoo 8004. Gejala penyakit HDB dikonversi menjadi keparahan penyakit (KP) (Gnanamnickam *et al.* 1999) dan penghambatan relatif (PR) (Li *et al.* 2015) dengan rumus:

$$\text{KP (\%)} = \frac{\text{Panjang gejala HDB}}{\text{Total panjang daun}} \times 100\%$$

$$\text{PR (\%)} = \frac{\text{KP kontrol patogen} - \text{KP perlakuan}}{\text{KP kontrol patogen}} \times 100\%$$

### Analisis Statistika

Data yang diperoleh diolah menggunakan program SPSS 15.0 untuk analisis sidik ragam. Apabila terdapat pengaruh yang berbeda nyata dilanjutkan dengan uji Duncan pada taraf nyata  $\alpha$  0.05 (Steel dan Torrie 1980).

## HASIL

### Aktivitas Penghambatan Bakteri Filosfer terhadap Xoo 8004

Aktivitas penghambatan bakteri filosfer terhadap Xoo 8004 ditandai dengan adanya zona bening disekitar bakteri filosfer pada medium LA. BFF 75 menghasilkan aktivitas penghambatan terkecil 0.167 sedangkan BFR 153 menghasilkan aktivitas penghambatan terbesar 2.026 (Tabel 1; Gambar 1).

### Optimasi Medium Alternatif Untuk Perbanyak Biomassa Sel Bakteri Filosfer

Medium alternatif (susu skim molase, ekstrak bekatul, dan kaldu kentang) dapat menumbuhkan hampir semua bakteri filosfer. Medium susu skim molase mampu memperbanyak bakteri BFV 60 hingga biomassa sel tertinggi ( $2.05 \times 10^{10}$  cfu mL<sup>-1</sup>) dalam waktu inkubasi

24 jam, tetapi tidak dapat menumbuhkan bakteri BFR 203. Bakteri filosfer dapat tumbuh mencapai  $10^9$ cfu mL<sup>-1</sup> dalam waktu inkubasi 30 jam pada medium ekstrak bekatul. Kaldu kentang mampu menumbuhkan semua bakteri filosfer dengan biomassa sel mencapai  $10^{10}$ cfu mL<sup>-1</sup> dalam waktu inkubasi yang lebih cepat dibandingkan dengan medium alternatif lainnya (Tabel 2). Kaldu kentang dipilih sebagai medium perbanyak biomassa sel bakteri filosfer.

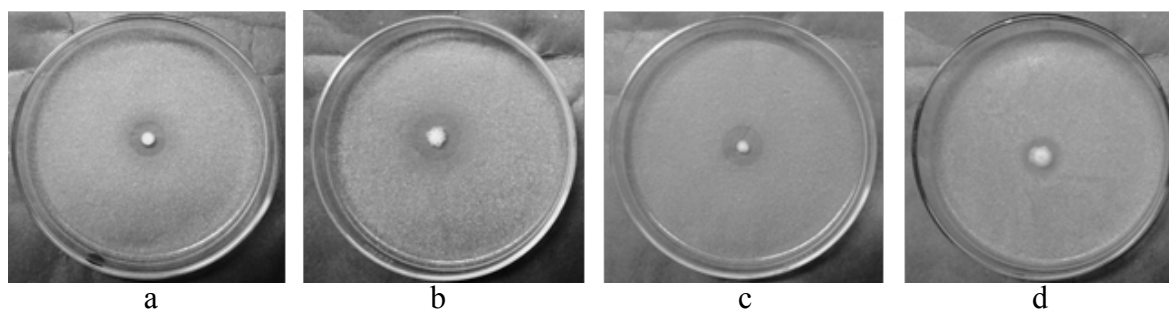
Laju pertumbuhan masing-masing bakteri filosfer pada medium kaldu kentang sangat bervariasi. Berdasarkan kurva tumbuh rata-rata waktu inkubasi untuk mencapai biomassa sel tertinggi ialah 30–36 jam. Bakteri filosfer BFV 60, BFF 69, BFF 84, BFR 203 dan BFR 217 mampu tumbuh hingga biomassa sel mencapai  $10^{11}$  cfu mL<sup>-1</sup> pada medium kaldu kentang (Gambar 2).

### Formulasi Bakteri Filosfer dalam Bahan Pembawa

Bakteri filosfer diformulasi dalam bahan pembawa utama, yaitu talek. Formula tersebut mengandung kadar air antara 10 – 12% dengan biomassa sel sebanyak  $10^9$  g<sup>-1</sup> formula.

Tabel 1 Indeks penghambatan bakteri filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo 8004) pada medium *luria bertani agar*

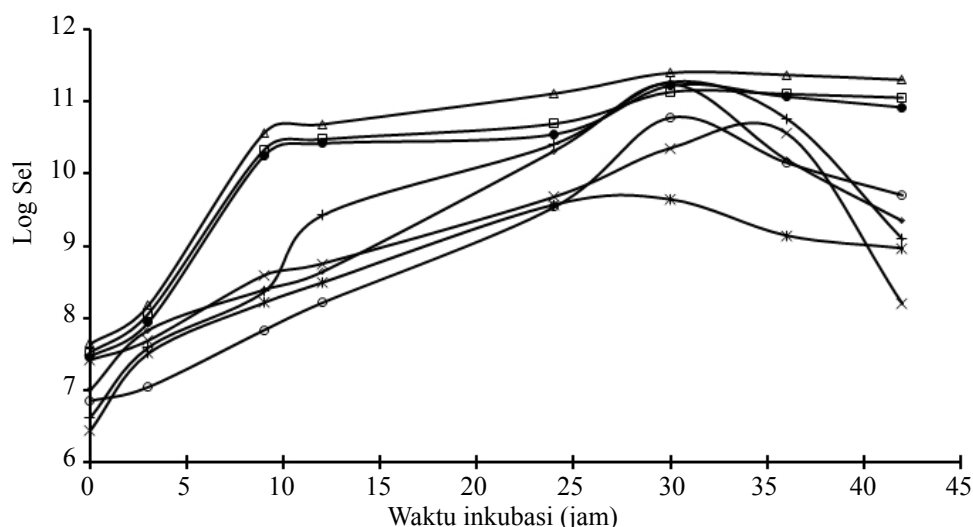
Isolat	Indeks penghambatan	Isolat	Indeks penghambatan
BFV 60	0.693 ± 0.109	BFR 153	2.026 ± 0.685
BFF 69	1.527 ± 0.358	BFR 183	1.148 ± 0.092
BFF 75	0.167 ± 0.144	BFR 203	0.940 ± 0.320
BFF 84	1.580 ± 0.310	BFR 217	0.652 ± 0.073



Gambar 1 Aktivitas penghambatan beberapa isolat bakteri filosfer terhadap *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* (Xoo 8004). a, BFR 153; b, BFF 84; c, BFF69 dan; d, BFR 183.

Tabel 2 Jumlah biomassa sel bakteri filosfer pada medium kaldu kentang, susu skim molase, dan ekstrak bekatul ekstrak bekatul yang diinkubasi pada inkubator bergoyang (120 rpm, 27 °C)

Indikator	Kode Isolat							
	BFV60	BFF69	BFF 75	BFF 84	BFR 153	BFR 183	BFR 217	BFR 203
Kaldu Kentang								
Jumlah sel (10 <sup>8</sup> cfu mL <sup>-1</sup> )	163	167	80	187	168	139	141	150
Waktu inkubasi (Jam)	22	22	22	22	18	18	18	18
Susu Skim Molase								
Jumlah sel (10 <sup>8</sup> cfu mL <sup>-1</sup> )	205	106	19	130	60	78	50	0
Waktu inkubasi (Jam)	24	24	24	24	48	48	24	0
Ekstrak Bekatul								
Jumlah sel (10 <sup>8</sup> cfu mL <sup>-1</sup> )	23	65	45	25	43	12	45	54
Waktu inkubasi (Jam)	30	30	30	30	30	30	30	30



Gambar 2 Pertumbuhan bakteri filosfer pada medium kaldu kentang (120 rpm, 27 °C, selama 48 jam). ●, BFV 60; □, BFF 69; ▲, BFF 84; ×, BFF 75; \*, BFR 153; ○, BFR 183; +, BFR 203 dan; ▲, BFR 217.

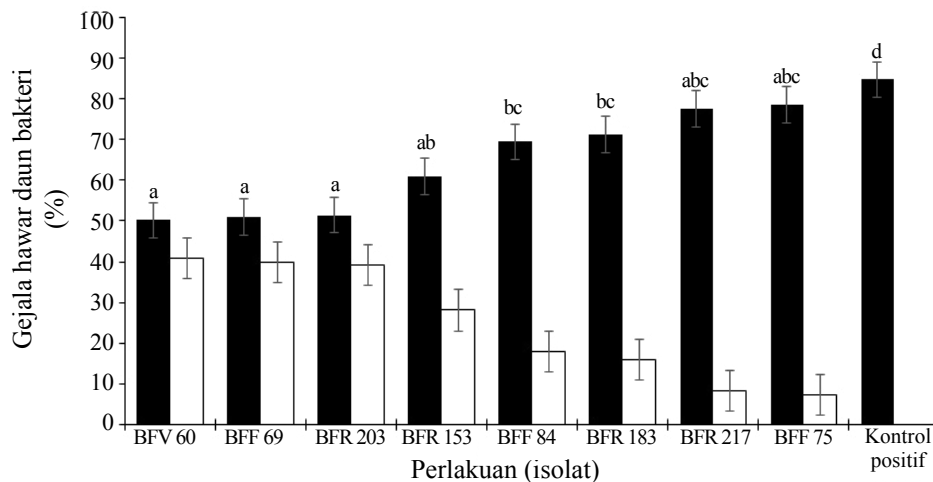
**Aplikasi Formula Bakteri Filosfer terhadap Xoo 8004 di Rumah Kaca**

Penilaian gejala HDB dilakukan dengan membandingkan panjang gejala nekrosis yang terbentuk dan panjang total daun. Gejala HDB mulai terlihat pada hari ke-5 setelah inokulasi Xoo 8004. Keparahan penyakit HDB pada tanaman padi mencapai 84.65% pada kontrol positif selama 34 HST, sedangkan keparahan penyakit HDB tertinggi pada formula BFF 75 mencapai 78.43%. Keparahan penyakit HDB terendah terjadi pada tanaman padi yang diberi

formula BFV 60 (50.17%). Formula BFV 60 (40.73%), BFF 69 (39.72%), dan BFR 203 (39.26%) menunjukkan hasil yang berbeda nyata dalam menghambat penyakit HDB padi dibandingkan dengan formula bakteri filosfer lainnya (Gambar 3).

**PEMBAHASAN**

Uji aktivitas antagonisme bertujuan untuk mengonfirmasi kemampuan bakteri filosfer dalam menghambat pertumbuhan



Gambar 3 Persentase gejala nekrosis dan penghambatan relatif gejala hawar daun bakteri tanaman padi 34 hari setelah tanam. Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama menunjukkan nilai yang tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada  $\alpha$  0.05. ■, Keparahan penyakit; □, Penghambatan relatif.

Xoo 8004 yang ditandai terbentuknya zona bening di sekitar koloni bakteri filofser. Indeks aktivitas penghambatan bakteri filofser terhadap Xoo 8004 berkisar antara 0.1–2. Sebanyak 4 bakteri filofser menunjukkan indeks aktivitas penghambatan  $> 1$ . Aktivitas penghambatan ini terjadi diduga karena adanya senyawa antimikrob yang dihasilkan oleh bakteri filofser yang mampu menghambat atau mematikan sel bakteri Xoo 8004. Mekanisme kerja antimikrob dalam menghambat pertumbuhan bakteri ialah dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri, menghambat fungsi membran sel bakteri, atau menghambat sintesis asam nukleat (Guilhelmelli *et al.* 2013).

Aplikasi agens biokontrol dalam skala besar dapat dilakukan menggunakan medium yang murah dan berlimpah di alam. Medium tersebut harus mengandung unsur makro (karbon dan nitrogen) dan unsur mikro yang esensial untuk pertumbuhan mikroorganisme (Laleye *et al.* 2007). Kaldu kentang adalah ekstrak cair rebusan kentang yang mengandung karbohidrat, protein, asam amino, fosfor, kalsium dan unsur mikro lainnya yang berguna untuk mendukung pertumbuhan semua bakteri filofser yang diuji. Martyniuk dan Oron (2011) melaporkan *Sinorhizobium meliloti* 330 tumbuh lebih banyak ( $3.3 \times 10^{10}$  cfu mL<sup>-1</sup>) pada medium *potato extract-sucrose broth*

dibandingkan dengan medium *yeast extract-mannitol broth* ( $1.9 \times 10^9$  cfu mL<sup>-1</sup>).

Formula bakteri filofser menghasilkan persentase penghambatan relatif tinggi pada percobaan di rumah kaca. Penghambatan relatif merupakan efektivitas bakteri filofser yang diformulasi dalam bahan pembawa talek untuk menurunkan infeksi penyakit HDB. Persentase penghambatan relatif dapat dikelompokkan menjadi 3 kelompok yaitu rendah ( $< 10\%$ ), sedang ( $10\text{--}25\%$ ) dan tinggi ( $> 25\%$ ). Formula bakteri filofser BFV 60, BFF 69, BFR 203, dan BFR 153 dengan persentase penghambatan relatif tertinggi ( $> 25\%$ ). Hal ini menunjukkan bahwa keempat formula tersebut lebih efektif dalam mengendalikan penyakit hawar daun bakteri yang disebabkan oleh Xoo 8004. Efektivitas formula tersebut sebagai agens biokontrol sangat dipengaruhi oleh kestabilan populasi sel bakteri dalam bahan pembawa dan penempelan bakteri di filofser daun padi sehingga mampu berkompetisi dengan bakteri patogen terhadap ruang dan nutrisi.

*Pseudomonas fluorescens* RRb11 mampu mereduksi serangan penyakit hawar daun hingga 83.37%. *P. fluorescens* RRb11 diformulasi dalam bahan pembawa talek dan diaplikasikan pada benih padi varietas Pusa Basmati 1 (Jambhulkar dan Sharma 2013). Perbedaan varietas padi dan perbedaan patotipe patogen akan menghasilkan pengaruh formula

agens biokontrol yang berbeda (Jabeen *et al.* 2012). Selain itu, metode aplikasi agens biokontrol juga memberikan pengaruh yang berbeda terhadap efektivitas formula untuk menurunkan serangan HDB.

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bakteri filosfer berhasil diformulasi dalam bahan pembawa talek dengan medium alternatif berupa kaldu kentang. Formula BFV 60, BFF 69, BFR 203, BFR 153 efektif untuk mengendalikan penyakit HDB di rumah kaca dengan nilai penghambatan berturut-turut sebesar 40.73%, 39.72%, 39.26%, dan 28.07%.

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Ristek DIKTI atas dukungan pendanaan penelitian Hibah Kompetensi Tahun 2016.

### DAFTAR PUSTAKA

- [AOAC] Association of official analytical chemists. 1996. Method of analysis association of official analytical chemistry. Washington (US): AOAC.
- Ardakani SS, Heydari A, Khorasani NA, Arhmandi R, Ehteshami M. 2009. Preparation of new biofungicides using antagonistic bacteria and mineral compounds for controlling cotton seedling damping-off disease. *J Plant Protect Res.* 49(1):4955. DOI: <https://doi.org/10.2478/v10045-009-0007-3>.
- Gnanamnickam SS, Priyadarisini VB, Narayanan NN, Vasudevan P, Kavitha S. 1999. An overview of bacterial blight disease of rice and strategies for its management. *Curr Sci.* 77(11):1435–1443.
- Guilhelmelli F, Vilela N, Albuquerque P, Derengowski LS, Silva PL, Kyaw CM. 2013. Antibiotic development challenges: the various mechanisms of action of antimicrobial peptides and of bacterial resistance. *Front Microbiol.* 4(353): 1–12. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2013.00353>.
- Jabeen R, Iftikhar T, Batool H. 2012. Isolation, characterization, preservation and pathogenicity of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* causing BLB disease in rice. *Pak J Bot.* 44(1):261–265.
- Jambhulkar PP, Sharma P. 2013. Development of bioformulation and delivery system of *Pseudomonas fluorescens* against bacterial leaf blight of rice (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*). *J Environ Biol.* 35(5):843–849.
- Krishanti NPR, Wahyudi AT, Nawangsih AA. 2015. Nonpathogenic phyllosphere bacteria producing bioactive compounds as biological control of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*. *Int J Pharm Bio Sci.* 6(1):801–810.
- Li P, Shi L, Gao M, Yang X, Xue W, Jin L, Hu D, Song B. 2015. Antibacterial activities against rice bacterial leaf blight and tomato bacterial wilt of 2-mercapto-5-substituted-1,3,4-oxadiazole/ thiadiazole derivatives. *Bioorg Med Chem Lett.* 25(3):481–484.
- Laleye SA, Tedela PO, Adesua B, Famurewa O. 2007. Growth of some microorganisms on medium formulated from local raw materials. *Res J Microbiol.* 2(6):545–549. DOI: <https://doi.org/10.3923/jm.2007.545.549>.
- Lisboa MP, Bonato D, Bizani D, Henriques JAP, Brandelli A. 2006. Characterization of bacteriosin-like substance produced by *Bacillus amyloliquefaciens* isolated from the Brazilian atlantic forest. *Int Microbiol.* 9:111–118.
- Martyniuk S, Oron J. 2011. Use of potato extract broth for culturing root-nodule bacteria. *Polish J Microbiol.* 60(4):323–327.
- Nayak D, Shanti ML, Bose LK, Singh UD, Nayak P. 2008. Pathogenicity association in *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* the causal organism of rice bacterial blight disease. *J Agric Biol Sci.* 3(1):12–27.
- Nurfitriani R. 2014. Penapisan bakteri filosfer penghasil senyawa bioaktif anti *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* penyebab penyakit hawar daun bakteri pada padi [skripsi]. Bogor (ID): Institut Pertanian Bogor.

Steel RGD, Torrie JH. 1980. *Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach*. 2<sup>nd</sup> edition. New york (US): McGraw-Hill Book Co.

Suryadi Y, Susilowati DN, Kadir TS, Zaffan ZR, hikmawati N, Mubarik NR. 2013.

Bioformulation of antagonistic bacterial consortium for controlling blast, sheath blight, and bacterial blight diseases on rice. *Asian J Plant Pathol*. 7(3):92–108. DOI: <https://doi.org/10.3923/ajppaj.2013.92.108>.