



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN SEDERHANA

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan hak atas Paten Sederhana kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten : UNIVERSITAS JAMBI
JI. Raya Jambi MA.Bulian KM.15
Mendalo Indah Jambi Luar Kota

Untuk Invensi dengan Judul : FORMULA BIOAGENSIA TRICHODERMA HARZIANUM TBP1
DAN BACILLUS SPP. UNTUK MENGENDALIKAN
CENDAWAN PATOGEN TULAR TANAH DAN PEMACU
PERTUMBUHAN TANAMAN

Inventor : Dr. Husda Marwan, SP., MP

Tanggal Penerimaan : 31 Oktober 2019

Nomor Paten : IDS000003523

Tanggal Pemberian : 12 Januari 2021

Perlindungan Paten Sederhana untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 10 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 23 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten)

Sertifikat Paten Sederhana ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP: 196611181994031001



(12) PATEN INDONESIA

(11) IDS000003623 B

(19) DIREKTORAT JENDERAL
KEKAYAAN INTELEKTUAL

(45) 12 Januari 2021

(51) Klasifikasi IPC³ : A 01N 63/00, C 05G 3/00

(21) No. Pemohonan Paten : S00201909860

(22) Tanggal Penerimaan: 31 Oktober 2019

(30) Data Prioritas :

(33) Tanggal Pengumuman: 31 Januari 2020

(5) Dokumen Perbandingan:

Alchemi Putri Juliantika Kusdiana, et al., "Penguji Biotungsiida Berbasis Mikroorganisme Antagonis Untuk Pengendalian Penyakit Jamur Akar Putih Pada Tanaman Karet" *Jurnal Penelitian Karet*, September 2015;

Abdul Manan, et al., "Kemampuan Campuran *Bacillus* sp., *Pseudomonas fluorescens*, dan *Trichoderma* sp., untuk Mengendalikan Penyakit Layu Bakteri pada Tanaman Tomat" *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, vol. 14 Nomor 2, Maret 2018;

Hersanti et al., "Penapisan Beberapa Isolat *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus subtilis* dan *Trichoderma harzianum* yang bersifat Antagonistik terhadap *Ralstonia solanacearum* pada Tanaman Kentang" *Jurnal Agrikultura*, 2009,

(71) Nama dan Alamat yang Mengajukan Pemohonan Paten :

UNIVERSITAS JAMBI
Jl. Raya Jambi MA. Bukit KM. 15
Mendalo Indah Jambi Luar Kota

(72) Nama Inventor :

Dr. Husda Marwan, SP., MP.ID

(74) Nama dan Alamat Konsultan Paten :

Pemeriksa Paten : Stefano Thomy Asidarmadi, S.TP, MH

Jumlah Klaim : 1

Judul Invenasi : FORMULA BIOAGENSIA TRICHODERMA HARZIANUM TBP1 DAN BACILLUS SPP. UNTUK MENGENDALIKAN CENDAWAN PATOGEN TULAR TANAH DAN PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN

Abstrak :

Abstrak ini berhubungan dengan formula agensia hayati (bioagensia) yang mengandung cendawan *Trichoderma harzianum* TBP1 dan bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18). Isolat *Trichoderma harzianum* TBP1 dan bakteri *Bacillus* spp. diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai dan diuji kemampuannya menghambat terhadap cendawan patogen tular tanah *Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*. Formula bioagensia dalam bentuk tepung kering mengandung konidia dan kladospora *Trichoderma harzianum* TBP1 dan spora bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18) pada media teak sebanyak 100 gram dicampurkan dengan spora bakteri *Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani* pada media teak sebanyak 900 gram dengan perbandingan 10 : 1.



DESKRIPSI

FORMULA BIOAGENSIA TRICHODERMA HARZIANUM TBP1
DAN BACILLUS SPP. UNTUK MENGENDALIKAN CENDAWAN
5 PATOGEN TULAR TANAH DAN PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN

Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berkaitan dengan formula agensia hayati yang mengandung cendawan *Trichoderma* sp. dan bakteri
10 *Bacillus* spp. untuk mengendalikan cendawan patogen tular tanah dan pemacu pertumbuhan tanaman. Invensi ini secara spesifik berhubungan dengan formula bioagensia berbentuk tepung kering yang mengandung propagul konidia dan klamidospora cendawan *Trichoderma harzianum* TBP1 dan
15 spora bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G-18) untuk mengendalikan cendawan patogen tular tanah.

Latar Belakang Invensi

Invensi teknologi yang berkaitan dengan formula
20 biofungisida *Trichoderma*, juga telah diungkapkan sebagaimana terdapat pada paten nomor IDS000002172 tanggal 12 Maret 2019, dengan judul : Biofungisida yang Mengandung *Trichoderma asperellum* dan *Curcuma aeruginosa* sebagai Pengendali Penyakit Bulai, dimana diungkapkan
25 invensi mengenai biofungisida berbentuk tepung untuk mengendalikan penyakit bulai jagung dimana biofungisida mengandung tepung fungi *T. asperellum*, tepung *C. aeruginosa* dan bahan pembawa tanah gambut. Biofungisida invesi ini dapat digunakan sebagai perawat benih untuk
30 penyakit bulai. Invensi ini ditujukan hanya untuk salah satu patogen yang menyerang tanaman jagung. Beberapa formula biofungisida yang diajukan/diproses hanya mengandung *Trichoderma* sp. sebagai agensia pengendali

f

cendawan saprofit tanah yang secara alami menyerang cendawan patogen dan bersifat menguntungkan bagi tanaman. *Trichoderma* mampu memarasit cendawan patogen tanaman dan bersifat antagonis, karena memiliki kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan cendawan lain.

Efektivitas *Trichoderma* sebagai agens hayati telah banyak dilaporkan seperti hasil penelitian Sunarwati & Yoza (2010) bahwa pemberian *Trichoderma* sp. sangat efektif menekan perkembangan penyakit *Phytophthora palmivora* pada tanaman durian sampai mencapai 99%. Dilaporkan juga bahwa aplikasi *Trichoderma* sp. pada tanaman tomat dapat menurunkan kehilangan hasil tanaman akibat infeksi penyakit layu Fusarium (Taufik, 2008). Cendawan *Trichoderma* sp. juga mampu berperan sebagai agens biokontrol untuk mengendalikan bakteri *Erwinia* pada *Aloe vera* (Mukarlina et al., 2013).

Mikroba lain yang sering digunakan sebagai agensia pengendalian hayati adalah bakteri *Bacillus* spp. *Bacillus* merupakan salah satu kelompok bakteri tanah yang seringkali ditemukan pada rizosfer tanaman. Keunggulan *Bacillus* dibandingkan dengan bakteri lain adalah kemampuannya menghasilkan endospora yang tahan terhadap panas dan dingin, pH yang ekstrim, pestisida, pupuk dan lamanya waktu penyimpanan (Gordon, 1989).

Anggota genus *Bacillus* mampu memproduksi antibiotik sebagai metabolit sekunder. Tercatat sebanyak 167 antibiotik yang dihasilkan. Variasi strain dari *Bacillus subtilis* dapat menghasilkan 66 antibiotik sementara *Bacillus brevis* dapat memproduksi 23 (Katz dan Demain, 1977).

Bacillus spp. banyak digunakan sebagai pengendali beberapa patogen tanaman. *Bacillus* sp. mampu menekan

penyakit pustul daun kedelai yang disebabkan *Xanthomonas campestris* pv. *glycines* (Salerno, 2003). Perlakuan PGPR (*B. subtilis* sp. dan *P. fluorescens*) dapat menekan serangan penyakit bulai pada tanaman jagung. Pemberian

5 *B. subtilis* (UB-ABS 4 dan 5) dapat menekan serangan penyakit bulai hingga 50% (Zainudin et al., 2014). Hasil penelitian Javandira et al. (2013) menunjukkan bahwa uji *B. subtilis* dan *P. fluorescens* maupun gabungan dari kedua

10 agensia hayati tersebut menunjukkan potensi menghambat pertumbuhan patogen *Erwinia carotovora* dengan menghasilkan zona bening. Hasil penelitian Damanik et al. (2013) menunjukkan kombinasi *Trichoderma* sp dengan *P. fluorescens* merupakan agensia hayati yang efektif

15 menekan perkembangan penyakit hawar daun bakteri pada padi.

Formulasi agensia hayati merupakan salah satu upaya yang diperlukan untuk meningkatkan masa simpan dan kinerja agensia hayati pada saat diaplikasikan di lapangan. Penggabungan beberapa jenis mikroba dengan

20 karakter unggul yang berbeda dalam satu formula agensia hayati diharapkan dapat menambah manfaat penggunaan formula agensia hayati terhadap pertumbuhan tanaman. Pengembangan formula agensia hayati bertujuan agar *Trichoderma* sp. dan *Bacillus* spp. dalam formula mampu

25 berkompetensi rizosfer lebih baik, cepat melakukan multiplikasi, aman untuk lingkungan.

30 Ringkasan Invensi

Invensi yang diusulkan ini merupakan suatu formula bioagensia (agensia hayati) berbentuk tepung kering yang mengandung konidia dan klamidospora dari cendawan

Trichoderma harzianum TBPl dan spora bakteri *Bacillus* spp.. Isolat *T. harzianum* TBPl dan *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18).

Isolat *T. harzianum* TBPl mampu menghambat
5 pertumbuhan koloni cendawan patogen *Sclerotium rolfsii*
sebesar 80,3%. Isolat *Bacillus* spp. B.G4-7 dan B.G4-18
mampu menekan serangan penyakit rebah kecambah (*damping*
off) pada kedelai yang disebabkan oleh cendawan *S.*
rolfsii sebesar 70%, menghambat pertumbuhan koloni
10 cendawan *Rhizoctonia solani*, serta mampu memfiksasi
nitrogen dan pelarut fosfat.

Isolat *T. harzianum* TBPl dan *Bacillus* spp. (B.G4-7
dan B.G4-18) diformulasi dalam bentuk tepung kering.
Konidia dan klamidospora *T. harzianum* TBPl diformulasi
15 dalam tepung beras, sedangkan spora *Bacillus* spp. (B.G4-
7 dan B.G4-18) diformulasi dalam tepung talek (*talk*).
Formula bioagensia terdiri dari campuran formula *T.*
harzianum TBPl dan formula *Bacillus* spp. dengan
perbandingan komposisi 10 : 1 (berat/berat).

20 Tujuan invensi ini adalah untuk menyediakan
bioagensia yang mengandung konidia dan klamidospra
Trichoderma harzianum TPBl dan spora *Bacillus* spp. untuk
mengendalikan jamur patogen tular tanah dan pemacu
pertumbuhan tanaman.

25

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini meliputi beberapa tahapan yaitu isolasi
cendawan *Trichoderma* spp. dan bakteri *Bacillus* spp. dari
rizosfer tanaman kedelai, uji penghambatan *in vitro*
30 isolat *Trichoderma* spp. dan *Bacillus* spp. terhadap
beberapa cendawan patogen tular tanah (*Sclerotium*
rolfsii dan *Rhizoctonia solani*), uji *in planta* isolat
agensia hayati pada tanaman kedelai dan bibit sayuran.

f



Isolat *Trichoderma harzianum* TBPI dan *Bacillus* spp. (B.G4-7 dan B.G4-18) hasil seleksi *in vitro* dan *in planta* di formulasi menjadi bioagensia yang dapat digunakan untuk mengendalikan serangan cendawan patogen tular tanah.

Isolasi cendawan *Trichoderma* spp. dari sampel tanah yang diambil pada beberapa area penanaman. Isolasi *Trichoderma* spp. dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran hingga 10^{-3} pada medium *Potato dextrose Agar* (PDA). Hasil isolasi dibiakkan dalam medium PDA miring dan disimpan dalam parafin cair, selanjutnya diidentifikasi berdasarkan *Illustrated Genera of Imperfect Fungi* (Barnett dan Hunter, 1972).

Trichoderma spp. diuji kemampuan menghambat cendawan patogen tular tanah secara *in vitro* mengacu pada metode dua biakan (Benhamou dan Chet, 1993) yang dimodifikasi. Cendawan *Trichoderma* dan patogen tular tanah (*Sclerotium rolfsii*) dibiakkan pada medium PDA dalam cawan petri, kemudian diinkubasikan selama 7 hari pada suhu kamar. Setiap isolat *Trichoderma* diuji sebanyak 3 kali. Isolat *Trichoderma* spp. disimpan dalam media PDA berupa agar miring dalam lemari pendingin pada suhu 5 °C.

Bakteri *Bacillus* sp. diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai. Sampel tanah diambil dari rizosfer beberapa varietas kedelai di lokasi yang berbeda. Sampel tanah tersebut diambil sebanyak 100 g dan dikompositkan sehingga didapatkan 500 g sampel tanah. Sebanyak 10 g tanah sampel disuspensikan pada 90 ml air steril dalam erlenmeyer dan dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 30 menit. Suspensi sampel dilakukan pengenceran berseri 10^{-1} - 10^{-9} , kemudian masing-masing suspensi pengenceran 10^{-3} , 10^{-7} dan 10^{-9} divortex dan dipanaskan di dalam

f

penangas air pada suhu 75-80°C selama 10 menit. Sebanyak 100 µl suspensi diteteskan pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA), kemudian diratakan menggunakan *glass beads*. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari dan dilihat koloni yang tumbuh. Koloni yang tumbuh dimurnikan kembali pada media TSA. Isolat disimpan dalam air steril untuk penyimpanan jangka pendek (1-3 bulan) pada suhu 5 °C dan gliserol 10% pada freezer -80 °C untuk penyimpanan jangka panjang (5-10 tahun).

10 Pengujian daya isolat *Bacillus* spp. terhadap *S. rolfsii* dan *R. solani* pada media PDA menggunakan metode uji ganda dengan menggoreskan isolat bakteri berjarak 3 cm dari tepi cawan pada media PDA dan 3 cm dari koloni cendawan *S. rolfsii/R. solani* berdiameter 0,5 cm. 15 Miselia cendawan yang digunakan umur 5-7 hari dan koloni cendawan masih aktif tumbuh. Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama 72 jam dan dilakukan pengamatan.

Pengujian secara *in planta* beberapa isolat *Bacillus* spp. yang menunjukkan kemampuan menghambat pertumbuhan koloni cendawan patogen *S. rolfsii* dan *R. solani* secara *in vitro*. Pengujian dilakukan dengan mengaplikasi suspensi isolat *Bacillus* spp. pada benih dan aplikasi pada lobang tanam kedelai dan pembibitan cabai. Strain *Bacillus* spp. yang menunjukkan mampu menekan 25 perkembangan penyakit yang disebabkan oleh cendawan *S. rolfsii* di formulasi sebagai bioagensia.

Pembuatan formula bioagensia dilakukan dengan membiakkan *T. harzianum* TPB1 pada media beras selama 14 hari, kemudian biakan digiling menggunakan blender dan diayak untuk mendapatkan tepung yang mengandung konidia dan klamidospora dan dikeringanginkan. Isolat bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18) diaktivasi pada media *Nutrient Broth* (NB) pada suhu 37°C dan 30

f

kemudian digoreskan pada media *Nutrient Agar* (NA) kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 12 jam. Koloni tunggal *Bacillus* spp. (isolat B.G4-7 dan B.G4-18) diinokulasi pada 5 mL NB dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Sebanyak 5 mL suspensi isolat *Bacillus* spp. (isolat B.G4-7 dan B.G4-18) dibiakkan secara terpisah pada 250 ml media *Tryptone Yeast Extract* (TYE) yang mengandung *tryptone* (0.5% CR014 Himedia) dan *yeast extract* (0.25% RM668 Himedia) pada pH 7.0, kemudian diinokulasi pada suhu 37 °C selama 48 jam (Clements, 1968). Suspensi sel bakteri disentrifugasi pada kecepatan 9.000 RPM selama 10 menit. Pelet dari spora *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18) disuspesikan dalam 250 ml media TYE (digabung) kemudian disemprotkan pada satu kg tepung talek secara merata. Tepung talek yang mengandung spora dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 24 jam.

Formula bioagensia diperoleh dengan mencampur tepung konidia/klamidospora *T. harzianum* TBPl dan tepung spora *Bacillus* spp. (isolat B.G4-7 dan B.G4-18) dengan perbandingan 10 : 1 (berat/berat).

Aplikasi formula bioagensia dapat dilakukan pada benih, media tanam dan penyemprotan pada tanaman. Aplikasi formula bioagensia pada benih dilakukan dengan mencampurkan 25 - 50 gram formula dengan satu kilogram benih. Aplikasi pada media tanam dilakukan dengan meletakkan satu gram formula bioagensia dekat lubang tanam. Aplikasi menggunakan alat semprot dapat dilakukan dengan mencampur 5-10 gram formula bioagensia dalam 10 liter air.

f

Klaim

1. Formula biogenesis untuk mengendalikan cendawan patogen tular tanah dan pemacu pertumbuhan tanaman yang terdiri dari konidia dan klamidospora cendawan *T. harzianum* TBPI dalam media tepung beras sebanyak 900 gram dan spora *Bacillus* spp. dari isolat B.G4-7 dan B.G4-18 dalam media talik sebanyak 100 gram, dimana dicirikan bahwa perbandingan antara konidia dan klamidospora cendawan *T. harzianum* TBPI terhadap spora *Bacillus* spp. dari isolat B.G4-7 dan B.G4-18 tersebut adalah 10 : 1.

Abstrak**FORMULA BIOAGENSIA TRICHODERMA HARZIANUM TBPI
DAN BACILLUS SPP. UNTUK MENGENDALIKAN CENDAWAN
PATOGEN TULAR TANAH**

5

Invensi ini berhubungan dengan formula agensia hayati (bioagensia) yang mengandung cendawan *Trichoderma harzianum* TBPI dan bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18). Isolat *Trichoderma harzianum* TBPI dan bakteri *Bacillus* spp. diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai dan diuji kemampuan menghambat terhadap cendawan patogen tular tanah *Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*. Formula bioagensia dalam bentuk tepung kering mengandung konidia dan klamidospora *Trichoderma harzianum* TBPI dan spora *Bacillus* spp. Konidia dan klamidospora cendawan *T. harzianum* TBPI pada media beras sebanyak 900 gram dicampurkan dengan spora bakteri *Bacillus* spp. (strain B.G4-7 dan B.G4-18) pada media talk sebanyak 100 gram dengan perbandingan 10 : 1.

15

20

f