

**KAJIAN BAKTERI INDIGEN DARI LENDIR KULIT
KATAK SAWAH (*Fejervarya limnocharis*) LOKAL
MUNTILAN SEBAGAI AGEN BIOKONTROL
PENYAKIT ANTRAKNOSA TANAMAN CABAI**

SKRIPSI

Untuk memenuhi sebagai persyaratan
Mencapai derajat sarjana S-1 pada Program Studi Biologi



disusun oleh
Afrizka Premana Sari
09640017

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UIN SUNAN KALIJAGA
YOGYAKARTA
2014**



PENGESAHAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

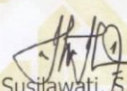
Nomor : UIN.02/D.ST/PP.01.1/527/2014

Skripsi/Tugas Akhir dengan judul : Kajian Bakteri Indigen dari Lendir Kulit Katak Sawah
(*Fejervarya limnocharis*) Lokal Muntilan Sebagai Agen
Biokontrol Penyakit Antraknosa Tanaman Cabai

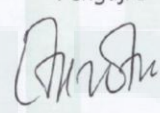
Yang dipersiapkan dan disusun oleh :
Nama : Afrizka Premana Sari
NIM : 09640017
Telah dimunaqasyahkan pada : 4 Februari 2014
Nilai Munaqasyah : A
Dan dinyatakan telah diterima oleh Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga

TIM MUNAQASYAH :

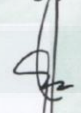
Ketua Sidang


Lela Susilawati, S.Pd., M.Si
NIP.19790127 200901 2 004

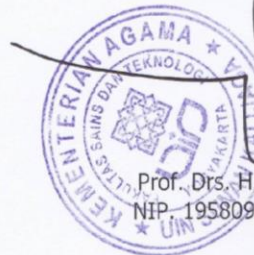
Penguji I

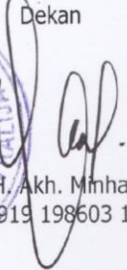

Erny Qurotul Ainy, S.Si., M.Si
NIP.19791217 200901 2 004

Penguji II


Arifah Khusnuryani, M.Si.
NIP. 19750515 200003 2 001

Yogyakarta, 17 Februari 2014
UIN Sunan Kalijaga
Fakultas Sains dan Teknologi
Dekan




Prof. Drs. H. Akh. Minhaji, M.A, Ph.D
NIP. 19580919 198603 1 002



SURAT PERSETUJUAN SKRIPSI/TUGAS AKHIR

Hal : Persetujuan Skripsi

Lamp : -

Kepada

Yth. Dekan Fakultas Sains dan Teknologi

UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta

di Yogyakarta

Assalamu'alaikum wr. wb.

Setelah membaca, meneliti, memberikan petunjuk dan mengoreksi serta mengadakan perbaikan seperlunya, maka kami selaku pembimbing berpendapat bahwa skripsi Saudara:

Nama : **Afrizka Premana Sari**
NIM : 09640017
Judul Skripsi : *Kajian Bakteri Indigenous dari Lendir Kulit Katak Sawah (*Fejervarya limnocharis*) Lokal Muntilan sebagai Agen Biokontrol Penyakit Antraknosa Tanaman Cabai.*

sudah dapat diajukan kembali kepada Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata Satu dalam Biologi.

Dengan ini kami mengharap agar skripsi/tugas akhir Saudara tersebut di atas dapat segera dimunaqsyahkan. Atas perhatiannya kami ucapkan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Yogyakarta, 20 Januari 2014
Pembimbing

Lela Susilawati, S.Pd., M.Si.
NIP.19790127 200901 2 004

SURAT PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : **AFRIZKA PREMANA SARI**
NIM : 09640017
Prodi : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi

Dengan ini menyatakan bahwa di dalam skripsi yang berjudul "**Kajian Bakteri Indigen dari Lendir Kulit Katak Sawah (*Fejervarya limnocharis*) Lokal Muntilan sebagai Agen Biokontrol Penyakit Antraknosa Tanaman Cabai**" ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan Tinggi. Sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 20 Januari 2014
Pembuat Pernyataan

METERAI
TEMPEL
PAJAK PEMANGUN BANGSA
TGL. 20
76C88ACF132174428
ENAM RIBU RUPIAH
6000
DUP

Afrizka Premana Sari
09640017

MOTTO

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal (Ali Imran:190).

Katakanlah: sesungguhnya sembahyangku, ibadatku, hidupku dan matiku hanyalah untuk Allah, Tuhan semesta alam (Al An'am:162)

Semangat, karya nyata, Allahhuakbar!



Halaman Persembahan

Bismillahirrahmaanirrahiim..

Karya sederhana ini kupersembahkan kepada Sang Maha Ilmu, Pemilik Semesta ini, Allah SWT yang memiliki hak atas segala makhlukNya. Semoga tulisan ini bisa menghantarkan pada ibadah, jihad berilmu dan keridhaanNya.

Kepada Ayah dan ibu tercinta kuberikan cinderamata ini untuk menunjukkan baktiku pada kalian, meski tidak seberapa dengan kasih sayang yang telah kalian berikan pada anakmu, semoga dapat mengukir senyum diwajahmu yang selalu meneduhkan.

Kepada adik-adikku dan para sahabat yang rela menggadaikan waktu kebersamaannya demi penulisan karya ini, semoga bisa memberi cerita tersendiri dalam ukhuwah kita.

Kepada cahaya-cahaya kecil yang tak kenal padam mencari cahaya ilmu di almamater Prodi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta yang luar biasa telah mengenalkan keterpaduan Islam-Sains, kudedikasikan seberkas cahaya ilmu ini bagi kalian.

Kata Pengantar

Alhamdulillahirobil'amin, segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan skripsi yang berjudul "Kajian Bakteri Indigen dari Lendir Kulit Katak Sawah (*Fejervarya limnocharis*) Lokal Muntiran sebagai Agen Biokontrol Penyakit Antraknosa Tanaman Cabai". Laporan ini disusun sebagai syarat untuk menyelesaikan studi jenjang Strata-1 Program Studi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Penulis menyadari bahwa berkat bantuan dari berbagai pihak yang berupa moral dan material, skripsi ini dapat terselesaikan. Oleh karena itu pada kesempatan ini penulis mengucapkan rasa terimakasih kepada:

1. Bapak Prof. H. Akhmad Minhaji, M.A., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi.
2. Ibu Anti Damayanti H., S.Si., M.Mol.Bio selaku Ketua Program Studi Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
3. Ibu Lela Susilawati, M.Si. selaku pembimbing yang telah berjasa memberikan bimbingan, arahan, serta kesempatan besar sehingga penulis mendapatkan pengalaman yang sangat berharga yang Insya Allah bermanfaat.
4. Ibu Erny Qurotul Ainy, S.Si, M.Si. selaku penguji I yang telah memberikan arahan untuk memadukan sains-Islam dalam penyajian skripsi ini.
5. Ibu Arifah Khusnuryani, M.Si. selaku penguji II yang telah mengoreksi ulang penulisan laporan ini sehingga bisa lebih baik lagi. Terimakasih pula atas

isolat *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 0063 yang telah diberikan kepada penulis.

6. Bapak M. Ja'far Luthfi, M.Si, Ph.D, selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan akademik selama penulis menimba ilmu di Prodi Biologi UIN Sunan Kalijaga.
7. Mbak Ethik, Mbak Anif, Pak Doni, Pak Tri, dan Mbak Festi selaku Laboran di Laboratorium Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Terimakasih atas segala bantuan dan kerjasamanya selama pelaksanaan penelitian di Laboratorium Mikrobiologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta.
8. Mbak Siti Junnah M., S.Si., terimakasih atas isolat fungi *C. capsici* TCKr2 yang telah diberikan kepada penulis sehingga penelitian dapat berjalan lancar.
9. Ayahanda tercinta, Teguh Pramono yang selalu memberi inspirasi dan motivasi dalam mencapai cita-cita, serta Ibunda tercinta, Somyati yang tanpa lelah senantiasa mendukung dan mendoakan penulis di tiap sepertiga malamnya. Terimakasih untuk kerelaan kalian atas waktu keluarga yang berkurang selama pengerjaan TA ini.
10. Adik-adikku tersayang, Burhanuddin Aziz Pramono yang sok bisa membantu pengerjaan skripsi dan Choirul Azmi Zuhdi Pramono yang selalu memberikan semangat baru berupa buku-komiknya serta keceriaan di rumah.
11. Mbak Eko, Mbak Lilis, dan Mbak Iffa yang telah bersedia menjadi “agen pencerahan” dalam bekerja dan bergalau-ria di lab mikrobiologi.
12. Sahabat “spreader” di lab mikrobiologi: Titin_Ipin, Elma_Upin, Feni_Cinta, Marfi_Maniez, Zaina, Nani, Nunung, Tias. Terimakasih atas kasih sayang,

nasihat, dan kehebohan yang diberikan. Kepada Adi dan Firdaus sebagai penyeimbang di lab mikrobiologi, kebaikan kalian insya Allah dibalas dengan pahala yang berlimpah.

13. Teman-teman Biologi 2009 yang telah menjadi keluarga selama mencari cahaya di almamater tercinta Prodi Biologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta. Semoga ilmu yang kita dapatkan barokah. *Together we can!*
14. Klub A4H yang selalu memotivasi dan berbagi cerita “akhir kuliah” masing-masing sehingga selalu menguatkan penulis dengan doa dan nasihatnya.
15. Semua pihak yang telah memberikan manfaat sekecil apapun, yang turut membantu dalam memberikan bantuan, motivasi dan doanya.

Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan untuk menjadi masukan yang berharga. Semoga skripsi ini dapat memberikan wawasan dan manfaat bagi kita semua. Amiin.

Yogyakarta, 19 Januari 2014

Penulis

**KAJIAN BAKTERI INDIGEN DARI LENDIR KULIT KATAK
SAWAH (*Fejervarya limnocharis*) LOKAL MUNTILAN
SEBAGAI AGEN BIOKONTROL PENYAKIT ANTRAKNOSA
TANAMAN CABAI**

Afrizka Premana Sari
09640017

Abstrak

Penyakit antraknosa yang disebabkan oleh kapang *Colletotrichum capsici* seringkali menyerang tanaman cabai dan berimbas pada menurunnya nilai jual buah cabai. Oleh karenanya pemanfaatan bakteri sebagai agen biokontrol hayati sangat diperlukan. Lima isolat bakteri yang diisolasi dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) yaitu KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 diuji kemampuannya sebagai agen biokontrol kapang patogen *C. capsici* TCKr2. Uji antagonis dilakukan dengan metode *dual culture* dan *paper disc assay*. Kelima isolat diseleksi dalam menghasilkan enzim hidrolitik yaitu kitinase, protease dan lipase menggunakan media kitin 1%, kasein agar, dan media agar yang mengandung lemak.

Isolat KSMD3 dan KSMD10 merupakan isolat unggul yang mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen baik dengan metode *dual culture* maupun *paper disc assay*. Persentase penghambatan pada metode *dual culture* masing-masing adalah 50% dan 45%, sedangkan diameter zona jernih pada metode *paper disc assay* yaitu 35 mm dan 34 mm. Hasil pengamatan mikroskopis menunjukkan bahwa terjadi kerusakan pada hifa kapang. Isolat KSMD3 dan KSMD10 tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim kitinase, tetapi memiliki kemampuan proteolitik dan lipolitik. Kedua isolat unggul tersebut diidentifikasi sebagai anggota genus *Pseudomonas*.

Kata kunci: bakteri indigen, biokontrol, *Colletotrichum capsici*, *Fejervarya limnocharis*.

THE STUDY OF INDIGENOUS BACTERIA ISOLATED FROM SKIN FROG (*Fejervarya limnocharis*) MUCOUS AS BIOCONTROL AGENT OF CHILI ANTHRACNOSE DISEASE

Afrizka Premana Sari
09640017

Abstract

Anthracnose disease of chili plant caused by pathogenic fungi *C. capsici* and affect to economic losess of chili pepper. This research was conducted to study the antagonistic activity of five indigenous bacteria (KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, and KSMV15) isolated from skin frog (*F. limnocharis*) mucous. The aim of study was find potential biocontrol agent inhibit *C. capsici*. The antagonistic activity was measured by *dual culture* and *paper disc assay* methods. Those strains were screened based on their capability producing chitinase, protease, and lipase using chitin agar (1% chitin v/v), casein agar, and tributyrin agar respectively.

KSMD3 and KSMD10 were able to inhibit fungal growth by *dual culture test* the percentage was 50% and 45% respectively, and by *paper disc assay* the radial of clear zone was 35mm and 34mm. Abnormality in hypae morphology was observed. All isolates did not produce chitinase enzyme but KSMD3, KSMD9, and KSMD10 gave positive reaction on proteolytic and lipolytic assay. Identification using *profile matching* showed that KSMD3 and KSMD10 were member of genus *Pseudomonas*.

Key word: biocontrol agent, *Colletotrichum capsici*, *Fejervarya limnocharis*, indigenous bacteria.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN SKRIPSI.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN	iv
HALAMAN MOTTO	v
HALAMAN PERSEMBAHAN	vi
KATA PENGANTAR.....	vii
ABSTRAK	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR GAMBAR	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian.....	7
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	8
A. Penyakit Antraknosa.....	8
B. Fungi Colletotrichum	11

C. Potensi Bakteri sebagai Agen Biokontrol	13
D. Potensi Bakteri Indigen dari Lendir Kulit Katak Sawah sebagai Agen Biokontrol.....	15
BAB III METODE PENELITIAN.....	19
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
B. Prosedur Kerja	19
1. Preparasi isolat fungi <i>C. Capsici</i> TCKr2.....	19
2. Preparasi isolat bakteri indigen katak sawah	19
3. Uji potensi antifungi isolat bakteri indigen terhadap <i>C. capsici</i> TCKr2 secara <i>in vitro</i>	20
4. Uji aktivitas penghasil enzim hidrolitik	21
5. Pengamatan mikroskopis hifa	22
6. Karakterisasi dan identifikasi isolat bakteri indigen potensial sebagai agen biokontrol	22
7. Klasifikasi fenetik dengan metode <i>Numerical Taxonomy</i>	29
8. Identifikasi isolat unggul bakteri indigen tingkat genus	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
A. Hasil	31
B. Pembahasan.....	38
BAB V PENUTUP.....	45
A. Kesimpulan	45
B. Saran.....	45

DAFTAR PUSTAKA.....	47
LAMPIRAN.....	54



Daftar Tabel

	Halaman
Tabel 1. Unit karakter fenotipik	25
Tabel 2. Hasil uji antifungi bakteri indigen terhadap pertumbuhan <i>C. capsici</i> TCKr2 metode <i>dual culture</i> dan <i>paper disc assay</i> pada hari ke-3 suhu 29°C.....	31
Tabel 3. Karakter fenotipik isolat bakteri indigen.....	35
Tabel 4. Matriks $n \times t$ hasil uji fenotipik.....	36
Tabel 5. <i>Profile matching</i> isolat bakteri indigen dengan genus bakteri yang telah diketahui	37

Daftar Gambar

	Halaman
Gambar 1. Buah cabai yang terserang penyakit antraknosa	9
Gambar 2. <i>Colletotrichum capsici</i> , (a) Makrokonidia dan, (b) Aservulus..	12
Gambar 3. Skema <i>dual culture assay</i>	20
Gambar 4. Penampakan koloni kapang <i>C. capsici</i> TCKr2	32
Gambar 5. Hasil pengujian supernatant isolat bakteri indigen	32
Gambar 6. Pengamatan mikroskopis hifa <i>C. capsici</i> TCKr2	33
Gambar 7. Hasil uji kitinolitik	33
Gambar 8. Hasil uji hidrolisis kasein dan lipid	34
Gambar 9. Dendogram yang menunjukkan hubungan antar isolat bakteri indigen berdasarkan indeks similaritas Ssm	37

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto-Foto Penelitian	54
Lampiran 2. Komposisi Media.....	57
Lampiran 3. Hasil olah MVSP 3.1	59

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Tanaman cabai tergolong famili Solanaceae yang merupakan tanaman buah semusim. Cabai (*Capsicum annum*, L) merupakan komoditi hortikultura terpenting nomor empat di dunia dan nomor satu di Asia (Montri *et al.*, 2009). Di Indonesia buah cabai merupakan komoditas hortikultura unggulan karena memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi (Herwidyarti, 2013). Cabai yang memiliki rasa pedas khas sehingga sering digunakan sebagai bahan masakan masyarakat Indonesia.

Dalam rangka memenuhi kebutuhan konsumen akan cabai telah dilakukan penanaman secara intensif maupun ekstensif, tetapi produktivitas cabai sampai saat ini belum mengalami kenaikan yang signifikan (Girsang, 2008). Berdasarkan data Badan Pusat Statistik (BPS) (2013) produktivitas cabai di Indonesia antara tahun 2011 hingga 2012 hanya naik sebesar 0,6%. Kenaikan produktivitas tersebut masih belum dapat memenuhi kebutuhan pasar terhadap cabai. Produktivitas cabai baik dari segi kuantitas maupun kualitasnya dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu varietas tanaman cabai, teknik budidaya, kondisi geografis, dan organisme pengganggu tanaman /OPT (Wardani & Ratnawilis, 2002; Zahara & Harahap, 2007).

Keberadaan OPT seperti virus, fungi antraknosa, bakteri patogen, dan serangga-hama terbukti mampu menurunkan produktivitas cabai (Isaac, 1992). Salah satu organisme yang paling sering menyerang tanaman cabai baik saat

pra-panen maupun pasca-panen adalah fungi *Colletotrichum* spp., penyebab antraknosa pada cabai. Serangan *Colletotrichum* spp. dapat menurunkan produksi cabai sebesar 45-60% (Hidayat, *et al*, 2004). Apalagi saat musim hujan kerugian dapat mencapai 84% (Thind & Jhoty, 1985 *dalam* Nayaka *et al.*, 2009). Penyakit antraknosa dicirikan dengan mati pucuk yang berkelanjutan ke bagian tanaman sebelah bawah. Daun, ranting, dan cabang menjadi kering berwarna coklat kehitam-hitaman. Pada batang cabai aservulus cendawan terlihat seperti tonjolan (Duriat *et al.*, 2007 *dalam* Herwidyarti *et al*, 2013).

Penyakit antraknosa pada tanaman cabai paling sering disebabkan oleh tiga spesies fungi *Colletotrichum* yaitu *Colletotrichum acutatum*, *Colletotrichum gloeosporioides*, dan *Colletotrichum capsici* (Montri *et al*, 2009; Nayaka *et al.*, 2009). *C. capsici* merupakan fungi utama penyebab antraknosa karena dapat bertahan lama dalam biji (Ramachandran *et al.*, 2008 *dalam* Nayaka *et al.*, 2009). Fungi ini tidak berbahaya bagi manusia, akan tetapi merusak warna buah cabai sehingga tidak menarik dan berdampak pada menurunnya nilai jual buah cabai (Nayaka *et al.*, 2009). Fungi *Colletotrichum* juga biasa menyerang tanaman buah (Xie *et al.*, 2010), sayuran (Rajapakse *et al.*, 2002), dan tanaman hias (Freeman *et al.*, 2000).

Salah satu usaha pengendalian OPT yaitu dengan penggunaan agrokimia berupa pestisida (Priyanto, 2009). Akan tetapi pola penggunaan agrokimia yang tidak terkendali oleh beberapa petani dapat berdampak terhadap kesehatan petani itu sendiri. Bahan kimia sintetis dapat menimbulkan polusi lingkungan dan mengancam kesehatan (Imran *et al.*, 2012). Priyanto (2009) melaporkan

bahwa 99,8% petani di kabupaten Magelang keracunan pestisida sintetik. Efek kronis akibat dari keracunan adalah berat badan menurun, anorexia, anemia, tremor, sakit kepala, pusing, gelisah, gangguan psikologis, dan sakit dada.

Kerugian lain dari penggunaan pestisida sintetik adalah adanya residu pestisida pada produk pertanian (Miskiyah & Munarso, 2009). Residu yang tersisa pada produk pertanian contohnya yaitu organoklorin yang termasuk golongan organofosfat. Senyawa tersebut bersifat toksik bagi manusia (Blanpied, 1984 *dalam* Miskiyah & Munarso, 2009). Senyawa residu fungisida seperti prochloraz yang terbawa melalui kontak mulut juga berpotensi mengganggu perkembangan organ reproduktif manusia (Blystone *et al.*, 2007). Selain itu penggunaan fungisida sintetik pada lahan pertanian mampu menghambat mikoriza penting bagi tanaman (Brimner & Boland, 2003).

Salah satu alternatif untuk mengurangi ketergantungan pada pestisida maupun fungisida sintetik adalah dengan memanfaatkan agen biokontrol hayati. Penggunaan agen biokontrol hayati dapat berupa ekstrak tanaman maupun mikroba antagonis patogen. Pengembangan agen biokontrol sebagai biofungisida dan biopestisida diharapkan mampu menjadi alternatif pengendalian OPT seperti *C. capsici*, yang sekaligus aman terhadap lingkungan hidup.

Sejumlah agen biokontrol hayati dari golongan mikroba yang sudah diuji secara *in vivo* dan *in vitro* antara lain *Pseudomonas fluorescens* (Srinivas *et al.*, 2005), *Trichoderma* (Maymon *et al.*, 2004), dan *Bacillus subtilis* (Wharton & Dioguez, 2004). Mikroba tersebut mampu menghasilkan senyawa antifungi.

Senyawa antifungi yang diproduksi dapat berupa enzim, antibiosis, siderofor, atau senyawa toksin (Compant, 2005). Enzim hidrolitik yang memiliki kemampuan antifungi diantaranya adalah enzim kitinase dan enzim glukukanase, sedangkan contoh senyawa antifungi antara lain *pirolnitrin*, *pyoluteorin*, *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG), dan *phenazin* (Compant, 2005). Beberapa karakter fisiologis seperti kemampuan menghasilkan enzim ekstraseluler (enzim kitinase, protease, selulase), hidrogen sianida (HCN), dan aktivitas fluoresensi juga merupakan indikator untuk mengidentifikasi potensi bakteri sebagai agensia biokontrol (Eliza *et al.*, 2007).

Bakteri kitinolitik merupakan bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase untuk melisiskan dinding sel organisme yang mengandung kitin. Kitin adalah komponen struktur utama dari sebagian besar fungi (Chernin *et al.*, 1995), termasuk fungi penyebab antraknosa. Oleh sebab itu keberadaan bakteri kitinolitik mendapat perhatian yang cukup besar sebagai agen biokontrol karena memiliki kemampuan merusak struktur hifa fungi patogen (Chernin *et al.*, 1995).

Bakteri yang menunjukkan aktivitas kitinolitik juga dapat ditemui pada sejumlah kulit amfibi seperti katak dan salamander (Culp *et al.*, 2007; Lauer *et al.*, 2007; Harris *et al.*, 2009). Bakteri indigen yang diisolasi dari kulit katak mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen *Bathrachytrium dendrobatidis* penyebab penyakit *chytridiomycosis* pada amfibi, khususnya katak (Culp *et al.*, 2007). Bakteri tersebut antara lain *P. fluorescens*, *Staphylococcus epidermidis*, dan *Microbacterium laevaniformans*.

Allah SWT menerangkan dalam surat Ali Imran ayat 190-191 berikut,

“Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal,. (yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): "Ya Tuhan kami, tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha Suci Engkau, maka peliharalah kami dari siksa neraka” (Q.S Ali Imran: 190-191).

Ayat di atas menegaskan bahwa segala sesuatu di muka bumi, termasuk bakteri tidak diciptakan tanpa manfaat tertentu. Oleh karena itu kemampuan sejumlah bakteri indigen tersebut perlu dikaji lebih mendalam. Kemampuan antifungi oleh bakteri indigen dari kulit katak dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi antifungi universal untuk berbagai macam fungi (Harris *et al.*, 2006). Sebagaimana dilaporkan oleh Sholikhah (2012) bahwa bakteri indigen dari kulit katak yang merupakan anggota genus *Bacillus* sp. mampu menghambat pertumbuhan fungi *C. acutatum* NC32, penyebab antraknosa pada cabai.

Penelitian sebelumnya Susilawati & Sari (2013) telah berhasil mengisolasi dua puluh isolat bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah lokal Muntilan. Sebanyak lima isolat yaitu KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 akan diuji kemampuannya dalam menghambat *C. capsici* TCKr2 penyebab antraknosa tanaman cabai. Bakteri indigen kulit katak yang memiliki aktivitas antifungi diharapkan mampu menjadi agen biokontrol fungi penyebab antraknosa pada tanaman cabai, mengingat kerugian akibat penyakit antraknosa dan bahaya yang ditimbulkan oleh penggunaan fungisida sintetik.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang, rumusan masalah yang muncul antara lain:

1. Bagaimanakah hasil uji antagonis isolat bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) dalam menghambat fungi patogen *C. capsici* TCKr2 penyebab antraknosa pada tanaman cabai?
2. Bagaimanakah hasil seleksi bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) yang memiliki kemampuan kitinolitik, proteolitik, dan lipolitik?
3. Bagaimanakah hasil identifikasi bakteri indigen unggul dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) berdasarkan karakter fenotipik?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah untuk:

1. Mengetahui kemampuan antagonis bakteri lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) dalam menghambat pertumbuhan *C. capsici* TCKr2.
2. Mengetahui isolat bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) yang memiliki kemampuan kitinolitik, proteolitik, dan lipolitik sehingga berpotensi sebagai agen biokontrol fungi patogen.
3. Mengetahui hasil identifikasi bakteri indigen unggul dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) secara fenotipik.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan mempunyai manfaat sebagai berikut :

1. Mengeksplorasi manfaat bakteri indigen yang hidup di lendir kulit katak sawah.
2. Memberikan sumbangan ilmu pengetahuan khususnya di bidang mikrobiologi dengan memberikan informasi tentang keberadaan bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*).
3. Memberikan informasi mengenai potensi dan pemanfaatan isolat bakteri indigen katak sawah sebagai alternatif agen pengendali hayati yang aman bagi lingkungan.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

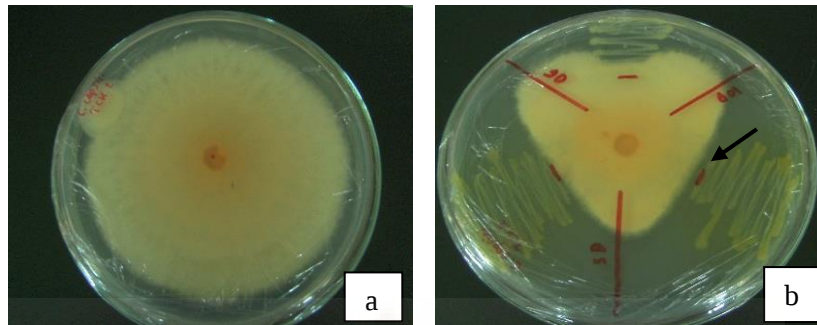
A. Hasil

Berdasarkan hasil uji antifungi dari kelima isolat bakteri indigen lendir kulit katak sawah, yaitu KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 terhadap kapang *Colletotrichum capsici* TCKr2 menunjukkan adanya aktivitas penghambatan. Hasil pengujian menggunakan metode *dual culture* maupun *paper disc assay* tampak bahwa isolat KSMD3 dan KSMD10 memiliki aktivitas penghambatan tertinggi terhadap pertumbuhan fungi *C. capsici* TCKr2 apabila dibandingkan dengan isolat lainnya. Isolat KSMD9, KSMV12, dan KSMV15 memiliki potensi penghambatan meskipun dalam persentase rendah sebagaimana disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji antifungi bakteri indigen terhadap pertumbuhan *C. capsici* TCKr2 metode *dual culture* dan *paper disc assay* pada hari ke-3 dengan suhu 29°C.

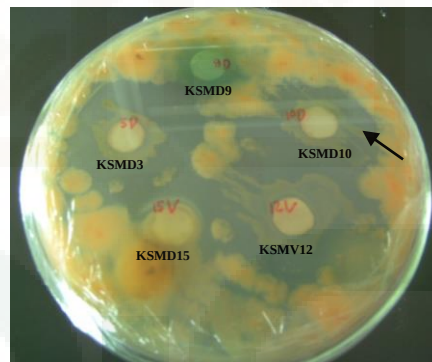
Kode Isolat	<i>Dual culture</i>		<i>Paper disc</i>
	<i>Radial Growth</i> (mm)	<i>Growth Inhibition</i> (%)	Diameter rata-rata zona hambat (mm)
Kontrol	38	0	-
KSMD3	19	50	38
KSMD9	32	16	21
KSMD10	21	45	35
KSMV12	27	29	34
KSMV15	27	29	22

Penampakan koloni kapang *C. capsici* yang ditumbuhkan bersama dengan bakteri indigenus dengan metode *dual culture* disajikan pada Gambar 4. Berdasarkan hasil pengujian *dual culture* tampak bahwa pertumbuhan kapang *C. capsici* TCKr2 terhambat di dekat goresan isolat bakteri uji KSMD3 dan KSMD10. Persentase penghambatan tertinggi dihasilkan oleh isolat KSMD3 yaitu 50%, sedangkan persentase terendah dihasilkan KSMD9 yaitu 16%.



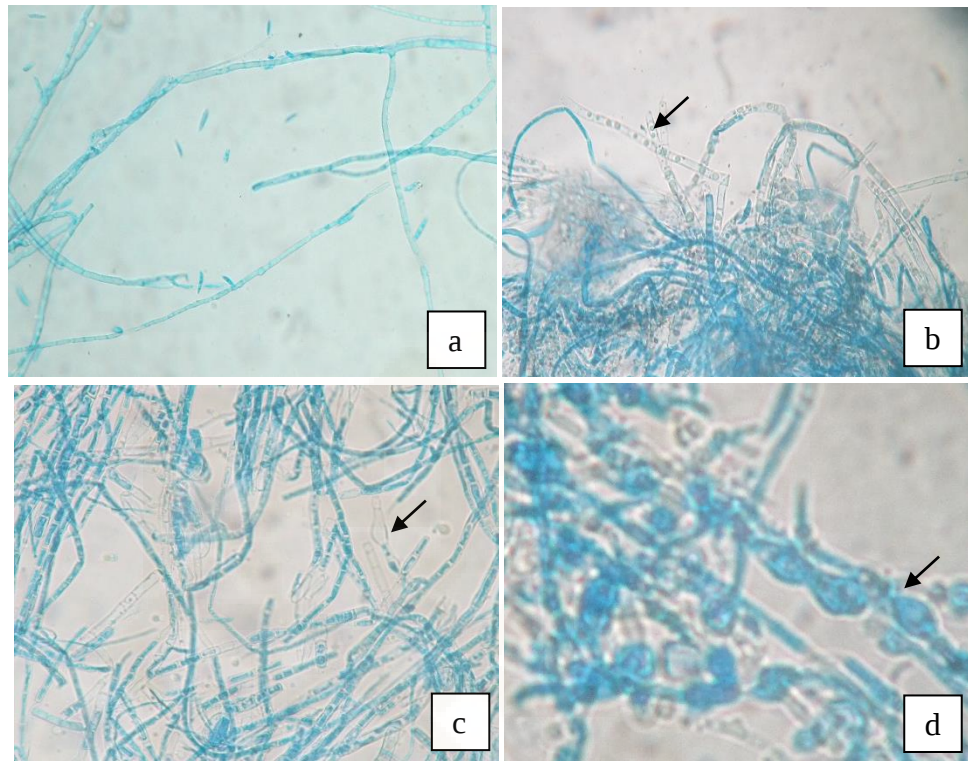
Gambar 4. Penampakan koloni kapang *C. capsici* TCKr 2. (a) kontrol; (b) hasil uji antagonis yang menunjukkan adanya daerah penghambatan (tanda panah).

Berdasarkan hasil pengujian antagonis menggunakan metode *paper disk assay* tampak bahwa isolat yang berpotensi tinggi dalam menghambat pertumbuhan fungi *C. capsici* TCKr2 adalah KSMD3, KSMD10, dan KSMV12 dengan zona hambat masing-masing sebesar 38 mm, 35 mm, dan 34mm (Gambar 5).



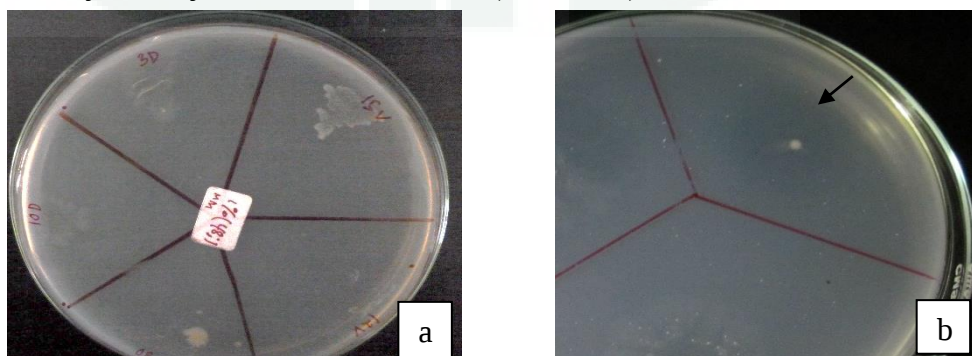
Gambar 5. Hasil pengujian supernatant isolat indigen dengan metode *paper disk assay* pada media NA setelah ditumbuhkan pada suhu 29°C selama tiga hari. (Zona hambat ditunjukkan dengan anak panah).

Adanya perubahan hifa kapang *C. capsici* setelah diuji antagonis dengan isolat indigen diamati menggunakan mikroskop (Gambar 6.) Berdasarkan hasil pengamatan tampak bahwa ada perubahan hifa pada kapang yang ditunjukkan dengan adanya hifa yang lisis dan membengkak.



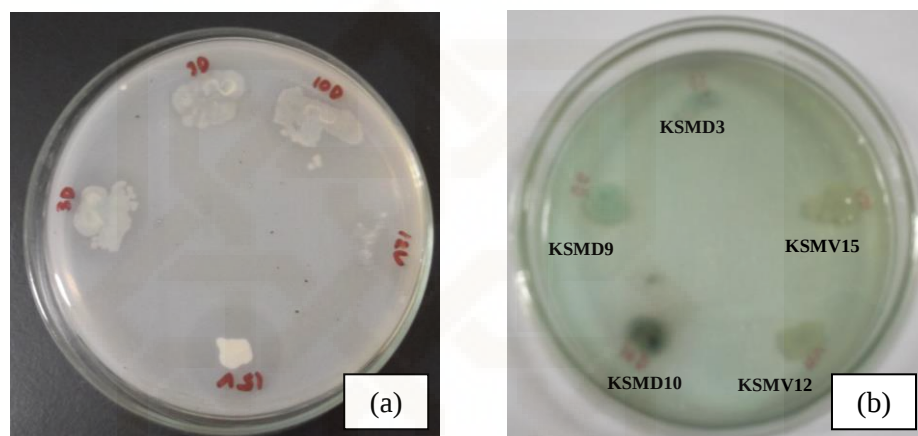
Gambar 6. Pengamatan mikroskopis hifa *C. capsici* TCKr2. (a) hifa normal; (b) dan (c) hifa lisis; (d) hifa membengkak, (perbesaran 400x).

Kemampuan isolat indigen dalam menghasilkan enzim kitinase diamati setelah ditumbuhkan dalam media yang mengandung kitin 1%. Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 0063 digunakan sebagai kontrol positif yang telah diketahui mampu menghasilkan kitinase. Lima isolat yang diuji tidak menunjukkan adanya aktivitas kitinolitik. Hal ini tampak dari tidak terbentuknya zona jernih di sekitar koloni (Gambar 7).



Gambar 7. Hasil uji kitinolitik (a) isolat bakteri indigen, (b) *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 0063, setelah ditumbuhkan pada suhu 29°C selama tiga hari. (Tanda panah menunjukkan zona jernih).

Selain kemampuan kitinolitik adanya aktivitas proteolitik dan lipolitik juga merupakan indikasi kemampuan isolat dalam menghambat kapang (Gambar 8.)



Gambar 8. Hasil uji hidrolisis (a) kasein dan (b) lipid pada kelima isolat indigen.

Berdasarkan hasil uji hidrolisis kasein tampak bahwa isolat KSMD3, KSMD9, KSMD10, dan KSMV15 memiliki kemampuan dalam menghidrolisis kasein menjadi asam amino sehingga terlihat adanya zona jernih di sekitar koloni (Gambar 8.a). Isolat KSMD3, KSMD9, dan KSMD10 juga menunjukkan hasil positif pada uji hidrolisis lipid yang ditunjukkan dengan warna hijau mengkilap pada koloni dan media di sekitarnya (Gambar 8.b).

Kelima isolat bakteri indigenus memiliki kemampuan antagonis terhadap kapang *C. capsici* TCKr2 meskipun potensi penghambatan pada isolat KSMD9 dan KSMV15 cukup rendah. Selanjutnya isolat KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 dikarakterisasi berdasar sifat fenotipiknya (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil uji fenotipik isolat bakteri indigen lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*)

Karakter	KSMD3	KSMD9	KSM10	KSMV12	KSMV15
Morfologi koloni:					
Bentuk koloni	circular	circular	circular	circular	circular
Warna koloni	putih	putih	Putih	kuning	oranye
Tepi koloni	entire	entire	entire	entire	entire
Elevasi	raised	raised	raised	raised	raised
Permukaan	mengkilap	mengkilap	mengkilap	mengkilap	mengkilap
Struktur dalam	transparan	opaque	transparan	opaque	opaque
Morfologi sel:					
Bentuk sel	oval	batang pendek	oval	coccus	coccus
Susunan sel	single	single	single	single	single
Sifat Gram	negatif	negatif	negatif	positif	positif
Motilitas	motil	motil	motil	motil	motil
Endospora	-	+	-	-	-
Biokimiawi:					
Katalase	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	-	+	-	-
Oksidase	+	-	+	-	+
Hidrolisis pati	-	-	-	-	-
Hidrolisis kasein	+	+	+	-	+
Hidrolisis lemak	+	+	+	-	-
Hidrolisis sitrat	+	-	+	-	-
Reduksi nitrat	+	+	+	+	+
Hidrolisis gelatin	+	-	+	+	+
Kebutuhan O ₂	aerob	fakultatif anaerob	aerob	fakultatif anaerob	fakultatif anaerob
Penghasil asam dari:					
Glukosa	-	-	-	+	+
Laktosa	-	-	-	+	+
Maltosa	-	-	-	+	+
Sukrosa	-	-	-	+	+
Mannitol	-	-	-	+	+
Penghasil gas dari:					
Glukosa	-	-	-	-	-
Laktosa	-	-	-	-	-
Maltosa	-	-	-	-	-
Sukrosa	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-
Pertumbuhan pada :					
Suhu 8°C	-	-	-	-	-
Suhu 28°C	+	+	+	+	+
Suhu 37°C	+	+	+	+	+
Suhu 42°C	+	-	+	-	+
Suhu 55°C	-	-	-	-	-
pH 3	-	-	-	-	-
pH 5	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+
pH 9	+	+	+	+	+
NaCl 0,5%	+	+	+	+	+
NaCl 5%	+	-	+	+	+
NaCl 10%	-	-	-	+	+
NaCl 15%	-	-	-	-	+

Hasil uji karakter fenotipik kemudian disusun dalam matriks $n \times t$ yang disajikan dalam Tabel 4.

Tabel 4. Matriks $n \times t$ berdasar karakter fenotipik

Karakter	KSMD3	KSMD9	KSM10	KSMV12	KSMV15
Morfologi koloni:					
Bentuk koloni	+	+	+	+	+
Warna koloni	+	+	+	-	-
Tepi koloni	+	+	+	+	+
Elevasi	+	+	+	+	+
Permukaan	+	+	+	+	+
Struktur dalam	-	+	-	+	+
Morfologi sel:					
Bentuk sel	+	-	+	+	+
Susunan sel	+	+	+	+	+
Sifat Gram	-	-	-	+	+
Motilitas	+	+	+	+	+
Endospora	-	+	-	-	-
Biokimiawi:					
Katalase	+	+	+	+	+
H ₂ S	+	-	+	-	-
Oksidase	+	-	+	-	+
Hidrolisis pati	-	-	-	-	-
Hidrolisis kasein	+	+	+	-	+
Hidrolisis lemak	+	+	+	-	-
Hidrolisis sitrat	+	-	+	-	-
Reduksi nitrat	+	+	+	+	+
Hidrolisis gelatin	+	-	+	+	+
Kebutuhan O ₂	-	+	-	+	+
Penghasil asam:					
Glukosa	-	-	-	+	+
Laktosa	-	-	-	+	+
Maltosa	-	-	-	+	+
Sukrosa	-	-	-	+	+
Mannitol	-	-	-	+	+
Penghasil gas:					
Glukosa	-	-	-	-	-
Laktosa	-	-	-	-	-
Maltosa	-	-	-	-	-
Sukrosa	-	-	-	-	-
Mannitol	-	-	-	-	-
Pertumbuhan pada:					
Suhu 8°C	-	-	-	-	-
Suhu 28°C	+	+	+	+	+
Suhu 37°C	+	+	+	+	+
Suhu 42°C	+	-	+	-	+
Suhu 55°C	-	-	-	-	-
pH 3	-	-	-	-	-
pH 5	+	+	+	+	+
pH 7	+	+	+	+	+

Tabel 4. (Lanjutan)

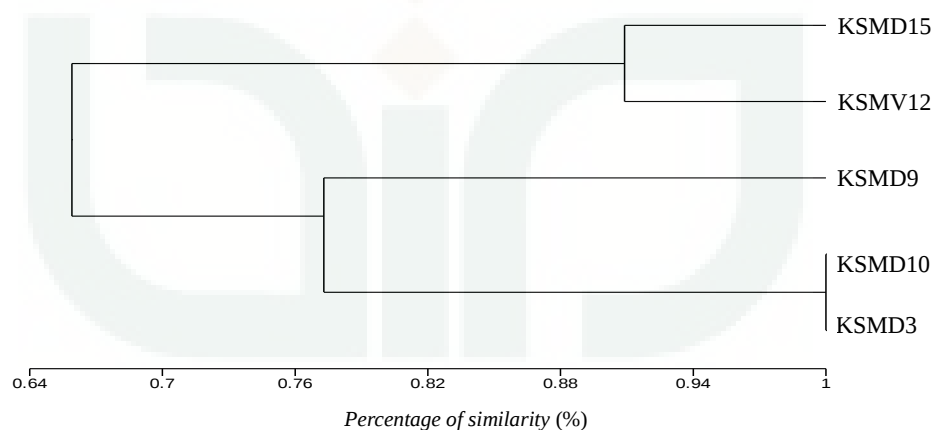
Karakter	KSMD3	KSMD9	KSMD10	KSMV12	KSMV15
pH 9	+	+	+	+	+
NaCl 0,5%	+	+	+	+	+
NaCl 5%	+	-	+	+	+
NaCl 10%	-	-	-	+	+
NaCl 15%	-	-	-	-	+

Berdasarkan data dari uji fenotipik kemudian dilakukan perhitungan nilai similaritas antar isolat menggunakan *Simple Matching Coefficient* (Grafik 1).

%					
KSMD3	100				
KSMD9	77.3	100			
KSMD10	100	77.3	100		
KSMV12	65.9	65.9	65.9	100	
KSMV15	70.5	61.4	70.5	90.9	100
	KSMD3	KSMD9	KSMD10	KSMV12	KSMV15

Grafik 1. Matriks similaritas (Ssm) antar isolat bakteri indigen lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) berdasarkan uji fenotipiknya terhadap 43 karakter

Berdasarkan nilai similaritas tersebut kemudian dibuat konstruksi dendogram dengan menggunakan algoritma *Average Linkage* (UPGMA) yang tersaji pada Gambar 9.



Gambar 9. Dendogram yang menunjukkan hubungan antar spesies isolat bakteri indigen berdasarkan indeks similaritas menggunakan Ssm

Berdasarkan Gambar 9, tampak bahwa isolat KSMD3 dan KSMD10 memiliki persentase similaritas 100%. Isolat KSMV12 dan KSMV15 memiliki persentase similaritas 90,9%. Semua isolat bergabung di 66,7%.

Dua isolat unggulan yang menunjukkan hambatan tertinggi dan kemampuan proteolitik serta lipolitik terhadap kapang *C. capsici* TCKr2, yaitu KSMD3 dan KSMD10 selanjutnya diidentifikasi hingga tingkat genus (*generic assignment*) menggunakan metode *profile matching* yang mengacu pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994). Isolat KSMD3 dan KSMD10 memiliki karakter yang mirip dengan anggota genus *Pseudomonas* sp..

Tabel 5. *Profile Matching* isolat bakteri indigen lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) dengan beberapa genus yang telah diketahui

Karakter	<i>Pseudomonas</i>	KSMD 3	KSMD 10
Warna koloni	NA	NA	NA
Struktur dalam	NA	NA	NA
Bentuk sel	oval	oval	oval
Susunan sel	tunggal	tunggal	tunggal
Sifat Gram	negatif	negatif	negatif
Kebutuhan O ₂	aerob	aerob	aerob
Reduksi nitrat	+	+	+
Pertumbuhan NaCl 10%	NA	NA	NA
Motilitas	motil	motil	Motil

NA: *Not Applicable*

B. Pembahasan

Kapang patogen yang sering kali menyerang tanaman cabai adalah kapang dari genus *Colletotrichum*. Salah satu spesies utama dari genus *Colletotrichum* yang menyebabkan penyakit antraknosa pada cabai adalah *C. capsici* (Nayaka *et al.*, 2009). Kapang *Colletotrichum* mampu menginfeksi tanaman cabai mulai dari biji hingga buah matang. Keberadaan kapang patogen tersebut menyebabkan gagal panen tanaman cabai sebesar 45%-60% (Hidayat, *et al.*, 2004).

Salah satu metode pengendalian terhadap kapang patogen yaitu dengan memanfaatkan agen biokontrol seperti mikroba antagonis (Nayaka *et al.*, 2009). Pemanfaatan mikroba, khususnya bakteri sebagai agen biokontrol terhadap kapang patogen telah banyak diterapkan antara lain golongan bakteri *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Agrobacterium* (Ezziyyani *et al.*, 2009; Nayaka *et al.*, 2009; Imran *et al.*, 2012). Sejumlah bakteri tersebut mampu menghasilkan senyawa bioaktif yang mampu menghambat pertumbuhan beberapa kapang patogen seperti *Colletotrichum* dan *Fusarium* (Nayaka *et al.*, 2009; Imran *et al.*, 2012). Mekanisme pertahanan bakteri terhadap kapang patogen dapat terjadi melalui beberapa cara yaitu kompetisi nutrisi pada inang, produksi senyawa metabolit, parasitisme langsung, dan mendorong ketahanan sistemik pada inang. Beberapa contoh senyawa metabolit ekstraselular yaitu antibiotik, siderofor, enzim detoksifikasi, senyawa volatil, dan enzim hidrolisis (Compant *et al.*, 2005).

Bakteri yang memiliki kemampuan sebagai agen biokontrol kapang patogen biasanya diisolasi dari tanah (Imran *et al.*, 2012). Namun ada beberapa bakteri yang dapat diperoleh dari substrat lain seperti dari lendir kulit amfibi (Harris *et al.*, 2009; Lauer *et al.*, 2008; Woodhams *et al.*, 2007). Bakteri yang berhasil diisolasi dari kulit katak (*Rana muscosa*) yaitu *Janthinobacterium lividum* (Harris *et al.*, 2009) dan *Pedobacter* sp. (Woodhams *et al.*, 2007) terbukti secara *in vitro* mampu menghambat kapang patogen *Batrachochytrium dendrobatidis* (Bd) penyebab penyakit chytridiomycosis (Becker *et al.*, 2009). Penyakit chytridiomycosis merupakan penyakit yang disebabkan kapang Bd

yang menyerang permukaan kulit katak sehingga mengakibatkan tebalnya kulit katak karena zat keratin. Hal tersebut menyulitkan katak dalam proses difusi garam mineral dan oksigen sehingga lambat laun mengakibatkan kematian katak (Voyles, 2009). Keberadaan bakteri indigen dari kulit katak yang mampu menghambat kapang *Bd* ini dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen biokontrol kapang patogen lainnya.

Indonesia dikenal sebagai negara tropis yang sesuai untuk habitat katak sehingga keanekaragaman spesies katak di Indonesia cukup tinggi. Adanya keragaman spesies katak sejalan dengan keragaman bakteri indigen yang terdapat pada kulit katak di Indonesia. Susilawati & Sari (2013) telah mengisolasi sebanyak dua puluh isolat bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*F. cancrivora*) Muntilan. Keduapuluh isolat tersebut diisolasi dari lendir di permukaan kulit katak bagian ventral dan dorsal kemudian dikarakterisasi secara makroskopis dan mikroskopis. Hasil karakterisasi menunjukkan adanya variasi bakteri indigen. Variasi tersebut mengindikasikan bahwa tiap isolat memiliki kemampuan tertentu salah satunya adalah sebagai agen biokontrol. Sebagaimana dilaporkan oleh Sholikhah (2012) bahwa isolat bakteri KSB9 dan KSB11 yang merupakan anggota genus *Bacillus* dari lendir kulit katak sawah mampu menjadi agen biokontrol bagi kapang *C. acutatum* NC32.

Hasil uji antagonis kelima bakteri indigen dari lendir kulit katak yaitu KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 menunjukkan adanya potensi dalam menghambat *C. capsici* TCkr2. Isolat KSMD3 dan KSMD10 merupakan isolat unggul yang berpotensi tinggi sebagai agen biokontrol. Hal

ini ditunjukkan dengan persentase penghambatan (*growth inhibition*) kedua isolat tersebut yang cukup tinggi yaitu berturut-turut 50% dan 45%. Hasil uji *paper disc* juga menunjukkan zona penghambatan yang luas yaitu 38 mm dan 35 mm (Tabel 2).

Terhambatnya pertumbuhan hifa kapang pada metode *dual culture* merupakan mekanisme antibiosis yang mengindikasikan adanya senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri uji (Korsten & Jager, 1995). Živković *et al* (2010) melaporkan bahwa kelainan hifa secara mikroskopis dan terhambatnya pertumbuhan kapang pada uji *dual culture* antara *C. acutatum* dengan *Tricoderma harzianum* merupakan mekanisme antibiosis.

Berdasarkan hasil pengamatan mikroskopis (Gambar 6) mekanisme penghambatan ini ditunjukkan dengan adanya hifa kapang yang melisis dan membengkak (*swollen*). Hal ini mengindikasikan abnormalitas hifa disebabkan oleh aktivitas antibiosis bakteri uji terhadap kapang. Sebagaimana yang dilaporkan oleh Hanif *et al.*, (2012) bahwa bakteri *Bacillus* sp. BK13 dan *Enterobacter* sp PB17 mampu menghambat kapang *Curvularia* sp. dengan ditandai adanya pembengkokan ujung miselium, miselium pecah, lisis, kerdil dan bercabang. Abnormalitas hifa kapang akibat aktivitas antibiosis juga ditemui dalam bentuk hifa yang membengkak dan pecahnya ujung hifa (Ayer *et al.*, 1980; Eliza *et al.*, 2007).

Uji antagonis dengan menumbuhkan secara bersama isolat bakteri unggul dan kapang patogen bersama dan pengujian secara tidak langsung menggunakan supernatant dari isolat indigen, kedua metode tersebut

menunjukkan potensi penghambatan yang cukup tinggi. Hal ini mengindikasikan adanya senyawa metabolit berupa zat antifungi yang dihasilkan bakteri indigen. Oleh karena itu mekanisme antibiosis dimungkinkan merupakan cara yang digunakan kedua isolat bakteri tersebut dalam menghambat *C. capsici*. Živković *et al.*, (2010) menyebutkan bahwa senyawa metabolit mampu masuk ke dalam dinding sel kapang patogen dan menghambat metabolisme sel dengan senyawa metabolit yang bersifat toksik tersebut.

Salah satu bentuk senyawa antifungi adalah enzim hidrolitik seperti kitinase dan glukonase (Compant *et al.*, 2005). Berdasarkan hasil uji potensi kitinolitik kelima isolat indigenus tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim kitinase. Sementara bakteri kontrol positif yaitu *Pseudomonas aeruginosa* FNCC 0063 mampu menghasilkan enzim kitinase yang ditandai dengan adanya zona jernih pada media kitin 1% di sekitar koloni (Gambar 7).

Enzim kitinase merupakan enzim yang berperan dalam menghidrolisis ikatan glikosidik β -1,4 senyawa kitin (Soesanto, 2005). Enzim kitinase merupakan salah satu senyawa antifungi yang terbukti mampu menekan pertumbuhan kapang patogen (Compant *et al.*, 2005). Hal ini dikarenakan sebagian besar komponen penyusun dinding sel hifa kapang adalah kitin, yaitu suatu polisakarida yang mengandung nitrogen (Campbell *et al.*, 2003). Bakteri yang mampu menghasilkan enzim kitinase disebut dengan bakteri kitinolitik. Keberadaan bakteri kitinolitik inilah yang sering dimanfaatkan sebagai agen

biokontrol fungi patogen karena memiliki kemampuan dalam menghidrolisis kitin pada hifa fungi (Chernin *et al.*, 1995).

Isolat unggul KSMD3 dan KSMD10 tidak memiliki aktivitas kitinolitik tetapi dimungkinkan memiliki enzim hidrolitik lain seperti glukonase, enzim proteolitik, siderofor, atau pun senyawa antibiotik lain. Berdasarkan hasil uji hidrolisis lipid dan kasein menunjukkan bahwa isolat unggul memiliki enzim lipase dan protease. Keberadaan enzim proteolitik disinyalir menjadi salah satu mekanisme bakteri dalam menghambat pertumbuhan kapang dengan cara menghidrolisis senyawa protein dan lipid pada dinding sel kapang. Hal ini disebabkan dinding sel hifa mengandung 80-90% polisakarida, 1-15% protein, dan 10% lipid (Hudson, 1987). Sebagaimana pula diungkapkan oleh Eliza *et al.* (2007) bahwa karakter fisiologis yang dihasilkan oleh bakteri perakaran Graminae seperti enzim protease, kitinase, selulase, HCN, dan aktivitas fluoresensi dapat digunakan bakteri tersebut untuk menghambat pertumbuhan kapang patogen.

Dua isolat bakteri unggulan yaitu KSMD3 dan KSMD10 berhasil diidentifikasi hingga tingkat genus secara fenotipik menggunakan metode *profile matching*. Isolat KSMD3 dan KSMD10 memiliki bentuk sel bulat lonjong, motil, dan bersifat aerob, karakter tersebut merupakan karakter kunci dari anggota genus *Pseudomonas*. Kedua isolat tersebut memiliki indeks similaritas 100%. Berdasarkan konsep taksospecies apabila antarstrain bakteri memiliki similaritas yang tinggi maka dianggap sebagai satu spesies yang sama (Logan, 1994). Priest (1984) menyatakan bahwa beberapa strain mikroba

dikelompokkan dalam satu spesies yang sama apabila indeks similaritasnya >70%, sehingga diduga isolat KSMD3 dan KSMD10 merupakan satu spesies.

Bakteri golongan *Pseudomonas* merupakan salah satu jenis bakteri yang sering digunakan sebagai agen biokontrol hayati. *Pseudomonas* spp. pendarfluor telah dikaji kemampuannya sebagai agen pengendalian hayati dengan mengeluarkan senyawa antibiotik larut air seperti turunan *fenazin*, *pyoluteorin*, *pyrrolnitrin*, *oomycin A*, *viscosinamide*, dan *2,4-diacetylphloroglucinol* (DAPG). 2,4-DAPG keluaran strain *Pseudomonas fluorescens* secara aktif melawan bakteri fitopatogenik, jamur, oomycetes, dan nematode (Michel *et al.*, 2005 dalam Hassanuddin, 2011). Selain itu beberapa bakteri *Pseudomonas* yang tergolong sebagai bakteri kitinolitik karena mampu menghasilkan enzim kitinase dan siderofor (Wahyudi *et al.*, 2011; Figueiredo *et al.*, 2010). Hassanuddin (2009) melaporkan bahwa bakteri *P. fluorescens* dan *P. aeruginosa* merupakan jenis bakteri yang bersifat antibiosis terhadap *R. lignosus*. Aktivitas antibiosis tersebut terkait dengan pengeluaran siderofor golongan katekol. *Pseudomonas* spp. juga mampu menghambat pertumbuhan kapang patogen *C. gloeosporoides* (Srividya *et al.*, 2012) dan *C. falcatum* (Viswanathan & Samiyappan, 2007). Selain sebagai agen biokontrol hayati *Pseudomonas* juga dapat dimanfaatkan sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman (Astuti, 2008).

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah:

1. Isolat bakteri KSMD3, KSMD9, KSMD10, KSMV12, dan KSMV15 yang diisolasi dari lendir kulit katak sawah (*F. limnocharis*) lokal Muntitan memiliki potensi yang bervariasi dalam menghambat pertumbuhan kapang patogen *C. capsici* TCKr2. Persentase penghambatan tertinggi dihasilkan oleh isolat KSMD3 yaitu 50%, sedangkan persentase penghambatan terendah dihasilkan oleh KSMD9 yaitu 16%.
2. Kelima isolat uji tidak mampu memproduksi enzim kitinase. Isolat yang memiliki kemampuan proteolitik dan lipolitik adalah KSMD3, KSMD9, dan KSMD10, sedangkan KSMV15 hanya memiliki kemampuan proteolitik saja. Berdasar uji antagonis dan penghasil enzim hidrolitik isolat yang dinyatakan unggul adalah KSMD3 dan KSMD10.
3. Isolat unggul, KSMD3 dan KSMD10 berhasil diidentifikasi sebagai anggota genus *Pseudomonas*.

B. Saran

Saran dari penelitian ini adalah:

1. Diperlukan penelitian mengenai senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh bakteri dalam menghambat pertumbuhan kapang patogen *C. capsici*.

2. Diperlukan kajian lebih banyak mengenai eksplorasi keragaman bakteri indigen dari lendir kulit katak dan amfibi lainnya.
3. Diperlukan penelitian dan identifikasi sampai aras spesies guna mengetahui klasifikasi bakteri yang memiliki potensi tinggi dalam menghambat kapang patogen *C. capsici*.
4. Diperlukan pengujian *in vivo* bakteri yang unggul dalam menghambat pertumbuhan kapang patogen *C. capsici*, penyebab penyakit antraknosa pada tanaman cabai.

DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G.N. (1988). *Ilmu Penyakit Tumbuhan, Edisi Ketiga*. Yogyakarta: UGM Press.
- Ayer, W. A., Sing, P.L., Akihiko, T., & Yasuyuki, H. (1980). The isolation, identification, and bioassay of the antifungal metabolites produced by *Monocillium nordinii*. *Can. J. Microbiol.*, 26, 766-773.
- Astuti, R. I.. (2008). Analisis Karakter *Pseudomonas* Sp. Sebagai Agen Pemacu Pertumbuhan Tanaman Dan Biokontrol Fungi Patogen. [Tesis]. Bogor : IPB.
- Adebola, M.O., & Amadi, J.E. (2010). Screening three *Aspergillus* species for antagonistic activities against the cocoa black pod organism (*Phytophthora palmivora*). *Agric. Biol. J. N. Am*, 1, 362-365.
- AVRDC (Asian Vegetable Research and Development Center). (1991). Pepper Disease, A Field Guide. AVRDC Publication.
- Blystone, C. R., Furr J., Lambright, C. S., Howdeshell K.L., Ryan B.C., Wilson V.S., LeBlanc G.A., Gray L.E. (2007). Prochloraz inhibits testosterone production at dosages below those that affect androgen-dependent organ weights or the onset of puberty in the male Sprague Dawley rat. *Toxicology Science*, 97, 65-74.
- Piay, S.S., Ariarti, T., Yuni, E., & F. Rudi, P.H. (2010). *Budidaya dan Pascapanen Cabai Merah (Capsicum anuum L.)*. Jawa Tengah: BPTP (Balai Pengkajian Teknologi Pertanian).
- BPS. 2013. Diakses dari www.deptan.go.id/infoeksekutif/horti/isi_dt5thn_horti.php pada tanggal 12 April 2013 pukul 15.27 WIB.
- Brimner, T. A., & Boland G. I.. (2003). A Review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant disease. *Agric. Ecosyst. Environ.* 100, 3-6.
- Brown, Alfred E. (2007). *Benson's Microbiological Applications: Laboratory Manual in General Microbiology, Short Version, 9th Edition*. McGraw-Hill Companies, Inc., 1221 Avenue of The Americas, New York
- Becker, M.H., Brucker, R.M., Schwantes, C.R., Harris, R.N., & Minbiole, K.P.C. (2009). The bacterially produced metabolite violacein is associated with survival of amphibians infected with a lethal fungus. *App. Env.*

Microbiology, 75, 6635-6638.

Chernin, L., Ismailov, Z., Haran, S., and Chet, I. (1995). Chitinolytic *Enterobacter agglomerans* Antagonistic to Fungal Plant Pathogens. *Journal Applied and Enviromental Microbiology*, 61, 1720-1726.

Compant S. Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka E. A. (2005). Use of plant growth promoting bacteria for biokontrol of plantdiseases: principles, mechanism of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol*, 71, 4951-4959.

Culp, C. E., Joseph O., Falkinham I., & Lisa K. B.. (2007). Identification of The Natural Bacterial Microflora on The Skin of Eastern Newts, Bullfrog Tadpoles and Redback Salamanders. *Herpetologica*, 63, 66-71.

Dwidjoseputro, D. (1978). *Pengantar Mikologi*. Bandung: Penerbit Alumni.

Departemen Agama RI. *Al Qur'an dan Terjemahnya*. Semarang : C.V Asy Syifa'.

Eliza, A., Munif, I Djatmika, & Widodo. (2007). Karakter fisiologis dan peranan antibiosis bakteri perakaran Graminae terhadap *Fusarium* dan pemacu pertumbuhan tanaman pisang. *J.Hort*, 17, 150-160.

Ezziyyani, M., Requena, M.E., Egea-Gilabert, C., Requena A.M., & Candela, M.E., (2009). Biological control of *Phytophthora capsici* root rot of pepper (*Capsicum anuum*) using *Burkholderia cepacia* and *Trichoderma harzianum*. *J.App.Biosci*. 13, 745-754.

Figueiredo, M.V.B., Seldin, L., Araujo, F.F., & Mariano, R.L.R. (2010). Plant Growth Promoting Rhizobacteria; Fundamental and Applications. *Micro.Monograph*. 18, 21-43.

Freeman, S., Shabi, E., and Katan, T. (2000). Characterization of *Colletotrichum acutatum* Causing Anthracnose of Anemone (*Anemone coronaria* L.). *Applied and Enviromental Microbiology*, 66, 5267-5272.

Girsang, E.M. (2008). Uji ketahanan beberapa varietas tanaman cabai (*Capsicum annum* L.) terhadap serangan penyakit antraknosa dengan pemakaian mulsa plastik. [Skripsi]. Medan : Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.

Giyanto, Suhendar, A., Rustam. (2009). Kajian pembiakan bakteri kitinolitik *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. pada limbah organik dan formulasinya sebagai pestisida hayati (bio-pesticide). *Prosiding seminar hasil penelitian IPB*, 19 November 2009.

- Gomes A., Biplab Giri, Archita Saha, R Mishra, S.C. Dasgupta, A Debnath, Aparna Gomes. 2007. Bioactive molecules from amphibian skin: Their biological activities with reference to therapeutic potentials for possible drug development. *Indian journal of experimental biology*, 45: 579-593.
- Hadi, A.S.M.I. (1997). *Hukum Makanan dan Sembelihan dalam Pandangan Islam*. Bandung: Trigenda Karya.
- Hanif, A., Dwi S., & Isnaini N. (2012). Pemanfaatan Bakteri Kitinolitik dalam Menghambat Pertumbuhan *Curvularia* sp. Penyebab Penyakit Bercak Daun pada Tanaman Mentimun. *Saintia Biologi*, 1, 33-39.
- Harley, John P. (2005). *Laboratory Exercise in Microbiology*, 6th Edition. New York : McGraw- Hill Companies, Inc., 1221 Avenue of The Americas.
- Harris, R. N., Robert M. B., Jenifer B. W., Matthew H. B., Christian R. S., Devon C. F., Brianna A. L., Douglas C. W., Cheryl J. B., Vance T. V., Kevin P. M., (2009). Skin Microbes on Frog Prevent Morbidity and Mortality Caused by a Lethal Skin Fungus. *The ISME Journal*, 3, 818-824.
- Harris, R.N., James, T.Y., Lauer, A., Simon, M.A., Patel, A. (2006). Amphibian pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* is inhibited by the cutaneous bacteria of amphibian species. *EcoHealth*, 3, 53-56.
- Hassanuddin. Uji aktivitas antibiosis *Pseudomonas* pendarfluor terhadap *Rigidoporus lignosus* (Klotszh) Imazeki penyebab penyakit akar putih. 2011. *J.HPT Tropika*, 11, 87-94.
- Hersanti, Fei Ling, & Zulkarnaen. (2001). Pengujian kemampuan campuran senyawa Benzothiadiazole 1% -Mankozeb 48% dalam meningkatkan ketahanan tanaman cabai merah terhadap penyakit antraknosa. *Prosiding Kongres nasional XVI dan Seminar Hasil. PFI*, Bogor, 22-24 Agustus 2001.
- Herwidyarti, K. H., S. Ratih, & D. R. J. Sembodo. (2013). Keparahan Penyakit antraknosa pada cabai (*Capsicum annum* L.) dan berbagai jenis gulma. *J.Agrotek.Tropika*, 1, 102-106.
- Hidayat, I. M., I. Sulastrini, Y. Kusandriani, & A. H. Permadi. (2004). Lesio sebagai komponen tanggap buah galur dan atau varietas cabai terhadap inokulasi *Colletotrichum capsici* dan *Colletotrichum gleosporoides*. *J. Hort.* 14, 161-162.
- Holt, J.G., Krieg, N.R., Sneath, P.H., Staley, J.T., Williams, S.T. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, 9th Edition. Maryland USA : Williams & Wilkins 428 East Preston Street Baltimore.

- Hudson, H.J. (1987). *Fungal Biology*. London : Edward Arnold Publisher Ltd.
- Imran, H., Trabelsi H. D., & EL Gazzah M. 2012. In vitro screening of soil bacteria for inhibiting phytopathogenic fungi. *African Journal of Biotechnology*, 11, 14660-14670.
- Isaac, S. 1992. *Fungal Plant Interaction*. London : Chapman and Hall Press, p.115.
- Jutono, Joedoro S., Sri H., Siti K., Suhadi D., & Soesanto. (1973). *Pedoman Praktikum Mikrobiologi Umum (untuk perguruan tinggi)*. Yogyakarta: Dept. Mikrobiologi Fak Pertanian UGM.
- Korsten, L., & Jager, E.E.D. 1995. Mode of Action of *Bacillus subtilis* for Control of Avocado Post-Harvest Pathogens. *South African Avocado Growers' Association Yearbook*, 18, 124-130.
- Kusnadi, Sutarnya, R., dan Munandar, A. (2009). Pengaruh Biofungisida *Bacillus subtilis* dan Mulsa Terhadap Serangan Penyakit Antraknosa pada Cabai Merah (*Capsicum annum* L.). *J Biosaintifika*, 1, 124-138.
- Lauer, A., Mary A. S., Jenifer L. B., Brianna A. L., & Reid N. H. (2008). Diversity of Cutaneous Bacteria with Antifungal Activity Isolated from Female Four-Toed Salamanders. *The ISME Journal*, 2, 145-157.
- Lazo GR, Roffey R, Gabriel DW. (1987). Conservation of plasmid DNA sequences and pathovar identification of strain *Xanthomonas campestris*. *Pytopathology*, 77, 1461-1467.
- Logan, N.A., (1994). *Bacterial Systematics*. London : Blackwell Scientifics Publications.
- Maymon, M., Minz, D., Barbul, O., Zveibil, A., Elad, Y. and Freeman, S. (2004). Identification to species of *Trichoderma* biocontrol isolates according to AP-PCR and ITS sequence analyses. *Phytoparasitica*, 32, 370-375.
- McKenzie, V. J., Robert M. B., Noah F., Rob K., & Christian L. L.. (2011). Co-habiting amphibian species harbor unique skin bacterial communities in wild populations. *The ISME Journal*, 6, 588-596.
- Miskiyah & S. J. Munarso. (2009). Kontaminasi Residu Pestisida pada Cabai Merah, Selada, dan Bawang Merah (Studi Kasus di Bandungan dan Brebes Jawa Tengah serta Cianjur Jawa Barat). *J. Hort.* 19, 101-111.

- Montri, P., Taylor P. W. J., & Mongkolporn. (2009). Pathotypes of *Colletotrichum capsici*, the causal agent of chili anthracnose, in Thailand. *Plant Dis.* 93, 17-20.
- Nayaka, S.C., Shankar, A.C.U., Niranjana, S.R., Prakash, H.S., Mortensen, C.N. 2009. Anthracnose Disease of Chili Pepper. Technical Bulletin.
- Priest, F., & Austin, B. (1995). *Modern Bacterial Taxonomy*, 2nd edition. London : Capman & Hall.
- Prijanto, T. B. (2009). Analisis Faktor Risiko Keracunan Pestisida Organofosfat Pada Keluarga Petani Hortikultura Di Kecamatan Ngablak, Kabupaten Magelang. [Tesis]. Semarang : Pascasarjana, Universitas Diponegoro.
- Pukala, T.L., Bowie, J.H., Maselli, V.M., Musgrave, I.F., Tyler, M.J. (2006). Review: Host-defense Peptides from the Glandular Secretions of Amphibians: Structure and Activity. *Natural Product Reports*, 23, 368-393.
- R. viswanathan, & R. Samiyappan. (2007). Siderophores and iron nutrition on the Pseudomonas mediated antagonism against *Colletotrichum falcatum* in sugarcane. *Sugar tech.*, 9, 57-60.
- Rajapakse, R.G.A.S., and Ranasinghe, JA.D.A.R. (2002). Development of Variety Screening Method for Anthracnose Disease of Chili (*Capsicum annum* L.) Under Field Condition. *Tropical Agricultural Research and Extension*, 5 :7-11.
- Sanborn, M.D., Cole, D., Abelsohn, A., Weir, E. (2002). Identifying and Managing Adverse Environmental Health Effect : 4. Pesticides. *Canadian Medical Association J.*, 166 :1431-1436.
- Semangun, H. (1996). *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta: UGM Press.
- Shenoy, B.D., Jeewon, R., Lam, W.H., Bhat D.J., Than, P.P., Taylor, P.W.J., & Hyde, K.D. (2007). Morpho-molecular characterization and epitification of *Colletotrichum capsici* (Glomerellaceae, Sordariomycetes), the causative agent of anthracnose in chili. *Fungal Diversity*, 27, 197-211.
- Sholikhah, L. (2012). Seleksi dan identifikasi bakteri indigenous dari lendir kulit katak sawah (*Rana cancrivora*) yang berpotensi sebagai agensia biofungisida. [Skripsi]. Yogyakarta : Fakultas Saintek, UIN Sunan Kalijaga.

- Srinivas, C., Niranjana, S.R., Praveen Kumar, L., Chandra Nayaka, S. & Shetty, H.S. (2005). Effect of chemicals and biological agents on seed quality of chilli (*Capsicum annum* L.). *Indian Phytopathology*, 59(1): 62-67.
- Srividya S., Ramyasmruthi S., Pallavi O., Pallavi S., & Tilak K. (2012). Mycolytic enzymes of fluorescent *Pseudomonas* sp. R as effective biocontrol against *Colletotrichum gloeosporoides* OGCI. *Asiatic Journal of biotechnology resources*, 03, 1425-1433.
- Soesanto, L., (2005). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Suhardi. (2009). Ekobiologi Patogen: Perspektif dan penerapannya dalam pengendalian penyakit. *Pengembangan Inovasi Pertanian*, 2, 111-130.
- Suryotomo, B. (2002). Kajian Tingkat Ketahanan Cabai Merah (*Casicum anuum*, L.) terhadap Penyakit Antraknosa. [Tesis]. Bogor : IPB.
- Susilawati, L., & Sari, A.P. (2013). Isolasi dan karakterisasi bakteri indigenous dari lendir kulit katak sawah (*Fejervarya cancrivora*) lokal Muntlan pada bagian dorsal dan ventral. *Makalah dipresentasikan pada Seminar Nasional ke-22 PBI*, Purwokerto, 31 Agustus 2013.
- Than, P.P., Prihastuti, H., Phoulivong, S., Taylor, P.W.J., & Hyde, K.D. (2008). Chilli anthracnose disease caused by *Colletotrichum* species. *J.Zhejiang Univ.Sci.B*. 9: 764-778.
- Voyles, Jamie Lynne. (2009). Virulence and pathogenesis of chytridiomycosis: a lethal disease of amphibian. [Tesis]. Queensland : James Cook University.
- Wardani, N., & Ratnawilis. (2002). Ketahanan beberapa varietas tanaman cabai terhadap penyakit antraknosa (*Colletotrichum* sp.). *Jurnal Agrotropika*, 7, 25.
- 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 Agric. Biologic. sci*. 6, 134-141.
- Wharton, P.S. & Diéguez-Urbeondo, J. (2004). The biology of *Colletotrichum acutatum*. *Anales del Jardin Botánico de Madrid*, 61, 3 -22.
- Woodhams, D.C., Vredenburg, V.T., Simon, M.-A, Billheimer, D., Shakhtour, B., Shyr, Y., Briggs, C.B., Rollins-Smith, L.A., & Harris R.N. (2007). Symbiotic Bacteria Contribute to Innate Immune Defenses of the Threatened Mountain Yellow-legged Frog, *Rana muscosa*. *Biological Conservation*, 138, 390-398.

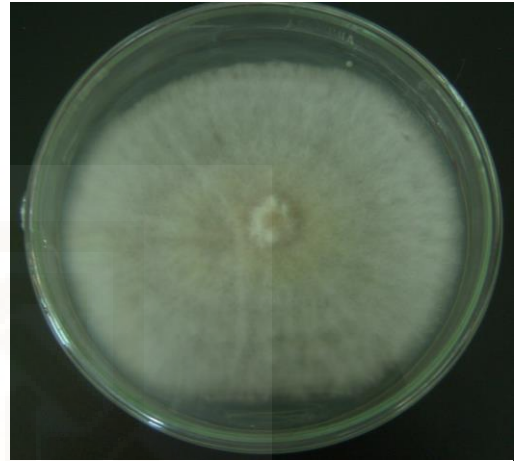
- Xie, L., Zhang, J., Wan, Y., & Hu, D.. (2010). Identification of *Colletotrichum* spp. Isolated from Strawberry in Zhejiang Province and Shanghai City, China. *Journal of Zhejiang University- Science B (Biomed & Biotechnol)*, 11, 61-70.
- Zahara, H., & Harahap, L. H.. (2007). Identifikasi Jenis cendawan pada tanaman cabai (*Capsicum annum*) pada topografi yang berbeda. *Disampaikan dalam Temu Teknis Pejabat Fungsional Non-Peneliti*. Bogor, 21-22 Agustus 2007. Pp 1-8.
- Zhang, Z.G., Hall A, Perfect, E., & Gurr, S.J. (2000). Differential expression of two chitin synthase genes of *Blumeria graminis*. *Mol Plant Pathol*, 1, 125–138.
- Živković, S., Stojanović, S., Ivanović, Ž., Gavrilović, V., Popović, T., & Balaž, J. 2010. Screening of Antagonistic Activity of Microorganism Against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum Gleosporioides*. *Arch. Biol. Sci. Belgrade*, 62 (3), 611-62.

LAMPIRAN

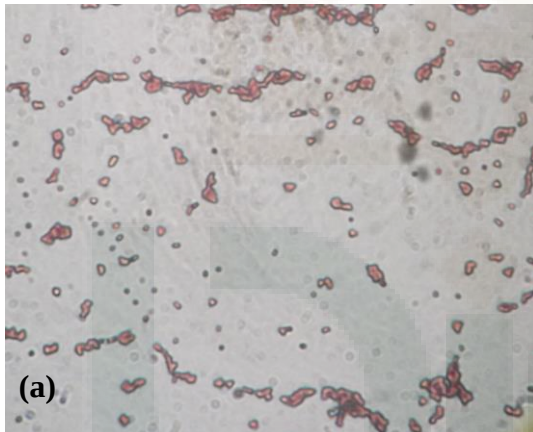
Lampiran 1. Foto Dokumentasi Penelitian



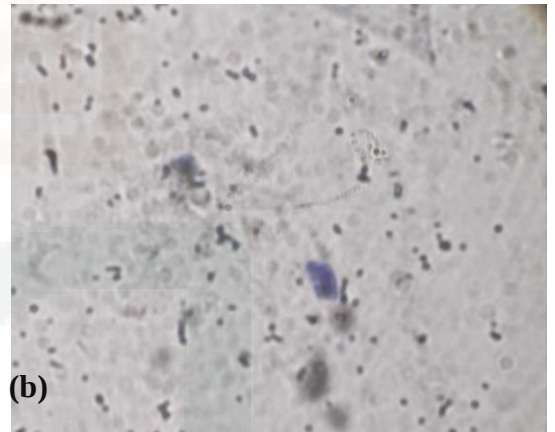
Gambar 10. Kultur bakteri indigen dari lendir kulit katak sawah (*Flimnocharis*)



Gambar 11. Kapang *C. capsici* TCKr2 yang ditumbuhkan pada media PDA

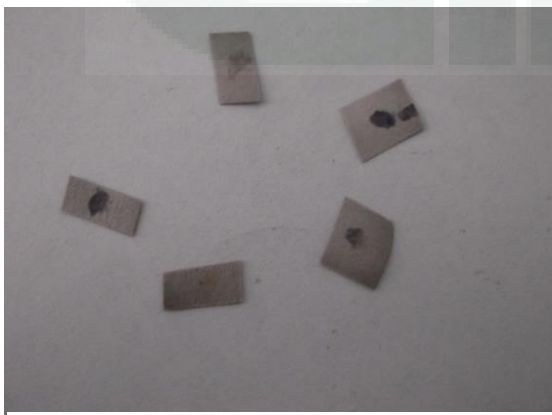


(a)

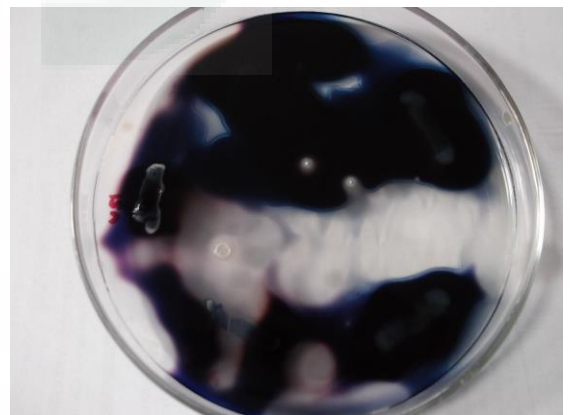


(b)

Gambar 12. Bakteri (a) Gram Negatif (KSMD3) dan (b) Gram positif (KSMV15)



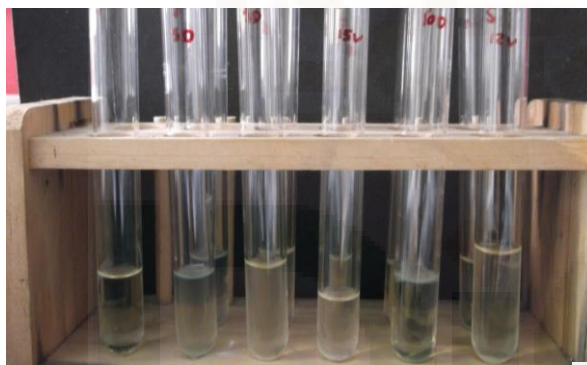
Gambar 13. Uji Oksidase



Gambar 14. Uji hidrolisis Pati



Gambar 15. Uji Fermentasi Karbohidrat



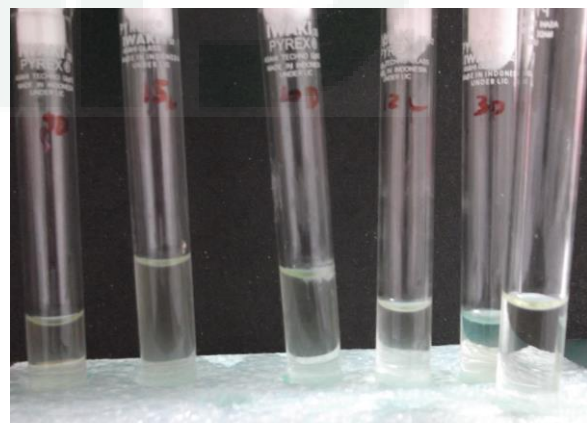
Gambar 16. Uji Kebutuhan O₂



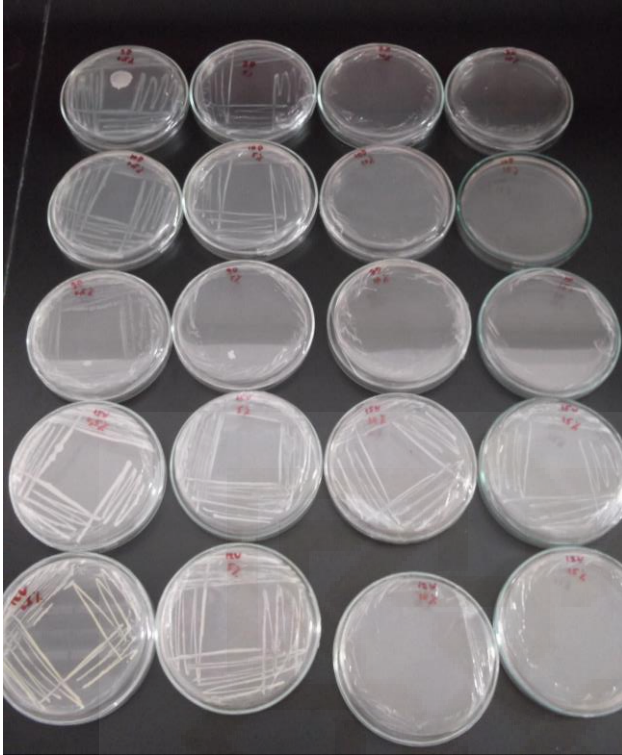
Gambar 17. Uji hidrolisis gelatin



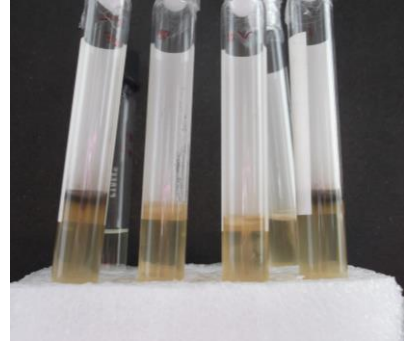
Gambar 18. Reduksi sitrat



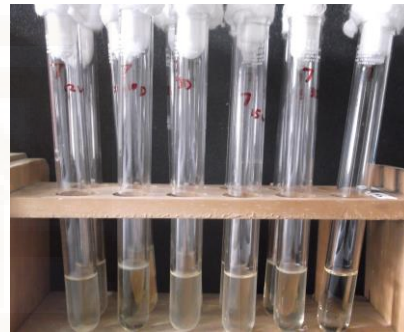
Gambar 19. Uji Pengaruh suhu 42°C terhadap pertumbuhan bakteri



Gambar 20. Uji pengaruh NaCl pada kadar 0,5%, 5%, 10%, dan 15%



Gambar 21. Uji Penghasil H₂S pada media SIM



Gambar 22. Uji Pengaruh pH 7 terhadap pertumbuhan



Gambar 23. Penulis saat melakukan uji antagonis metode *paper disc assay*

Lampiran 2. Komposisi Media

1. Media Minimal + Kitin 1%

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
MgSO ₄	0,3
KH ₂ PO ₄	1,36
(NH ₄) ₂ SO ₄	1,0
<i>Yeast extract</i>	0,5
Koloidal kitin	10,0
Agar teknis	15,0
Aquades	1 liter

2. Media NA + dekstrosa 2%

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	5,0
Beef Extract	3,0
Dekstrosa	20,0
Agar teknis	15,0
Aquades	1 liter

3. Media PDA

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Potato Dextrose Agar (MERCK)	35
Aquades	1 liter

4. Media Susu Agar

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	1
Agar Teknis	20
Aquades	1 liter

5. Media Lemak

Nutrient Agar 15ml ditambah minyak zaitun sebanyak 0,3-0,4 ml.

6. Media Sulfur, Indol, Motility (pH 7,3)

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	30,0
Beef extract	3,0
Fe(NH ₄)SO ₄	0,2
Sodium thiosulfat	0,025
Agar Teknis	3,0
Aquades	1 liter

7. Media Gelatin (pH 6,8)

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	5,0
Beef extract	3,0
Gelatin	120,0
Aquades	1 liter

8. Media Nitrat Cair (pH 7,3)

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	5,0
Beef extract	3,0
KNO ₃	1
Aquades	1 liter

9. Media Pati

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Beef extract	3,0
Pati	10,0
Agar Teknis	12,0
Aquades	1 liter

10. Media Sitrat Agar

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Sodium Chloride	5,0
Ammonium Dihydrogen phospatase	1,0
Bromthymol Blue	0,08
Magnesium Sulfate	0,2
Sodium Citrate	2,0
Dipotassium Phophatase	1,0
Agar Teknis	15
Aquades	1 liter

11. Media Fermentasi Karbohidrat

Bahan	Jumlah takaran (gr/L)
Pepton	5,0
Beef extract	3,0
Glukosa, Maltosa, Laktosa,	10,0
Mannitol, Sukrosa	
Phenolred	0,025
Aquades	1 liter

Lampiran 3. Data Olah MVSP versi 3.1

CLUSTER ANALYSIS

Data file - C:\MVSP\skripafriz.mvs

sa

Analysis begun: Thursday, October 24, 2013 12:35:00 AM

Analysing 44 variables x 5 cases

UPGMA

Simple Matching Coefficient

Similarity matrix

	KSMD3	KSMD9	KSMD10	KSMV12	KSMV15
KSMD3	1.000				
KSMD9	0.773	1.000			
KSMD10	1.000	0.773	1.000		
KSMV12	0.659	0.659	0.659	1.000	
KSMV15	0.705	0.614	0.705	0.909	1.000

KSMD3 KSMD9 KSMD10 KSMD10 KSMV12 KSMV15

Objects

Node	Group 1	Group 2	Simil.	in group
1	KSMD3	KSMD10	1.000	2
2	KSMV12	KSMV15	0.909	2
3	Node 1	KSMD9	0.773	3
4	Node 3	Node 2	0.667	5