

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Produk Agens Hayati

Pengambilan sampel agens hayati dilakukan dengan cara mengambil produk dari beberapa wilayah di daerah Malang Raya. Adapun sampel yang telah didapat terdiri dari 6 macam produk agens hayati (Tabel 1). Masing-masing sampel didapatkan dengan cara observasi dari beberapa wilayah sekitar Malang raya (Lampiran 1).

Tabel 1. Sampel Produk Agens Hayati

Kode Sampel	Nama Produk	Sumber Produk
S1	BETA Ramuan Tradisional	Produsen
S2	BETA Agens Hayati	Produsen
S3	Agens Hayati Tanpa Merk <i>Tricoderma sp.</i>	Petani
S4	PROSEN Agens Hayati	Produsen
S6	BETA Ramuan Tradisional	Petani
S7	Agens Hayati Tanpa Merk	Petani

Informasi yang diperoleh mengenai produk agens hayati yang dijadikan sampel didapatkan dengan cara wawancara dengan narasumber. Informasi tersebut digunakan sebagai bahan pertimbangan dan penilaian mengenai kualitas dari masing-masing sampel produk agens hayati. Berikut informasi dari tiap sampel produk agens hayati yang didapatkan (Tabel 2) :

Tabel 2. Informasi Sampel Produk Agens Hayati

No	Nama Produk	Sumber	Lokasi	Jangkauan Produksi	Sarana dan Prasarana Laboratorium	Penyediaan Isolat	Peremajaan Isolat
1.	BETA Ramuan Tradisional	Produsen	Buring	Pulau Jawa	Sangat buruk	Baik	Tidak sama sekali
2.	BETA Agens Hayati	Produsen	Buring	Pulau Jawa	Sangat buruk	Baik	Tidak sama sekali
3.	Agens Hayati Tanpa Merk (<i>Trichoderma sp.</i>)	Petani	Batu	Batu	Sangat buruk	Tidak baik	Tidak sama sekali

4	PROSEN Agens Hayati	Petani	Pujon	Pulau Jawa	Buruk	Baik	Tidak sama sekali
---	------------------------	--------	-------	------------	-------	------	----------------------

Tabel 2. Informasi Sampel Produk Agens Hayati (lanjutan)

No	Nama Produk	Sumber	Lokasi	Jangkauan Produksi	Sarana dan Prasarana Laboratorium	Penyediaan Isolat	Peremajaan Isolat
5.	BETA Ramuan Tradisional	Petani	Dau	Dau	Sangat buruk	Tidak baik	Tidak sama sekali
6.	Agens Hayati Tanpa Merk	Petani	Batu	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tidak diketahui	Tidak diketahui

Produk Agens Hayati BETA

Sampel agens hayati dengan nama produk BETA merupakan produk agens hayati yang didapatkan langsung dari produsen yang membuat produk agens hayati BETA (Lampiran 1). Produk ini telah di produksi ke beberapa wilayah di Jawa Timur bahkan banyak juga pemesanan dari beberapa petani di luar Jawa Timur. Berdasarkan informasi yang didapatkan dari narasumber, ramuan BETA adalah ramuan yang diolah khusus untuk keperluan mendukung proses budidaya pertanian, peternakan dan perikanan, bahkan menurut produsen yang memproduksi produk ini karena diolah dengan cara yang higienis dan *food grade* maka dapat digunakan juga untuk membantu meningkatkan kesehatan dan proses regenerasi tubuh sekaligus menyembuhkan berbagai penyakit. Ramuan ini berisi berbagai macam mikroorganisme lokal dan berbagai zat/nutrisi berkhasiat dan cukup untuk bisa merestorasi apapun yang hidup.

Pada kondisi nyata yang diamati melalui hasil survey langsung ke tempat produksi produk agens hayati BETA, tidak ditemukan adanya laboratorium yang steril yang mendukung untuk pengembangan dan peremajaan mikroba-mikroba agens hayati. Tempat yang digunakan untuk memproduksi produk agens hayati sangat jauh dari standar kualitas laboratorium pengembangan agens hayati yang sangat mengutamakan kebersihan dan kesterilan alat-alat yang digunakan. Menurut produsen yang memproduksi produk agens hayati BETA pengembangan dan peremajaan mikroorganisme tidak perlu menggunakan ruangan yang terlalu steril karena pada dasarnya mikroorganisme sendiri berasal dari alam yang terbuka hidup dan berkembang secara menyebar.

Berdasarkan keadaan tersebut sangat disayangkan proses pengembangan agens hayati tidak berjalan sesuai dengan standar oprasional

pengembangan agens hayati. Menurut Purnama *et al.*, (2015) menyatakan bahwa permasalahan utama yang menjadi kendala dari pengembangan agens hayati oleh beberapa produsen adalah adanya keterbatasan dalam hal: (1) pengetahuan untuk membuat agens hayati yang berkualitas, (2) peralatan pendukung untuk produksi agens hayati dalam skala lebih besar, (3) pengetahuan dalam hal bisnis dan manajemen. Untuk mendapatkan hasil terbaik, produksi agens hayati membutuhkan peralatan dan pengkondisian secara khusus seperti layaknya sebuah laboratorium mikrobiologi yang standar. Selain peralatan pemahaman dan penguasaan ilmu mikrobiologi juga perlu ditingkatkan termasuk standar dan operasi penggunaan peralatan. Produsen dan petani perlu diberikan pendidikan dan pelatihan agar bisa melakukan produksi agens hayati secara benar.

Produk Agens Hayati PROSEN

Produk agens hayati PROSEN merupakan produk agens hayati yang formulasinya terdiri dari beberapa jenis jamur dan bakteri. Produk ini diproduksi oleh salah satu petani di daerah Pujon, Kabupaten Batu, Jawa Timur. Agens hayati PROSEN diproduksi dengan skala yang besar karena konsumen yang menggunakan produk ini tidak hanya di sekitar wilayah Malang saja melainkan sudah diproduksi sampai ke daerah luar Jawa Timur. Produk agens hayati PROSEN memiliki formulasi yang terdiri dari jamur dan bakteri (Lampiran 1). Menurut pernyataan produsen dari hasil wawancara, isolat yang digunakan berasal dari beberapa laboratorium beberapa laboratorium pengembangan mikroorganisme di Jawa Timur dan juga beberapa isolat ada yang didapatkan dari Laboratorium HPT Universitas Brawijaya. Masing-masing isolat yang digunakan untuk produksi agens hayati disimpan maksimal 7 bulan untuk menjaga kualitas dari isolat itu sendiri.

Dalam proses kegiatan produksi agens hayati, produsen juga melakukan peremajaan isolat. Peremajaan dilakukan dengan cara memindahkan atau memperbarui biakan mikroba dari biakan lama ke medium tumbuh yang baru secara berkala. Namun peremajaan dilakukan dalam jangka waktu yang cukup lama. Hal ini dapat mengurangi kualitas dari isolat yang disimpan. Peremajaan secara berkala tidak dianjurkan untuk penyimpanan jangka panjang karena mempunyai beberapa kendala diantaranya kemungkinan terjadi perubahan genetik melalui seleksi varian, peluang terjadinya kontaminasi dan terjadi kekeliruan pemberian label (Machmud, 2001). Kendala tersebut memberikan peluang yang lebih besar terjadinya kehilangan isolat dibandingkan dengan teknik

lain. Meskipun demikian, banyak bakteri dan jamur yang dapat bertahan hidup dalam tabung agar miring yang tertutup rapat hingga sepuluh tahun atau lebih, baik di dalam suhu ruang maupun di lemari pendingin.

Produk Agens Hayati *Trichoderma* sp. (tidak memiliki merk)

Produk agens hayati *Trichoderma* sp. didapat dari salah satu petani di daerah Batu (Lampiran 1). Produk ini diproduksi secara personal oleh seorang petani tanpa menggunakan bantuan alat yang memadai maupun tempat atau laboratorium yang layak untuk mengembangbiakkan mikroba yang digunakan untuk produksi agens hayati. Berdasarkan informasi yang didapatkan dari hasil wawancara dengan petani tersebut, beliau memaparkan bahwa produk agens hayati *Trichoderma* sp. yang ia produksi banyak digunakan oleh petani-petani disekitar wilayah Batu untuk mengendalikan beberapa permasalahan yang sering muncul terutama masalah penyakit pada beberapa komoditas yang dibudidayakan oleh para petani di wilayah Batu.

Isolat yang digunakan untuk produksi agens hayati didapatkan dari salah satu PPAH yang berada di daerah Batu. Petani tersebut mengembangkan isolatnya dengan cara peremajaan secara rutin selama 1 bulan sekali. Peremajaan berkala yaitu peremajaan dengan cara memindahkan atau memperbaharui biakan mikroba dari biakan lama ke medium tumbuh yang baru secara berkala, misalnya sebulan atau dua bulan sekali. Menurut Machmud (2001) menyatakan penyimpanan jangka pendek mikroba dilakukan dengan memindahkan secara berkala jangka pendek misalnya sebulan sekali dari media lama ke media baru. Beberapa teknik penyimpanan sederhana yang efektif untuk penyimpanan isolat jangka pendek atau menengah, dan biasanya tidak sesuai untuk penyimpanan isolat jangka panjang. Walaupun demikian, teknik ini digunakan secara luas dan hanya memerlukan peralatan yang sederhana serta mudah diperoleh, sehingga dapat bermanfaat bagi lembaga yang belum memiliki peralatan canggih.

4.2 Hasil Uji Mutu Produk Agens Hayati

4.2.1 Kontrol Kualitas Bakteri

a. Kesesuaian Produk

Sampel produk yang diuji berasal dari beberapa produsen dan petani pada beberapa wilayah di Kota Malang. Pada tiap formulasi sampel agens hayati terdapat beberapa jenis bakteri. Kesesuaian bakteri pada tiap produk agens hayati diketahui melalui beberapa tahap pengujian (Tabel 3).

Berdasarkan beberapa hasil pengujian bakteri yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa dari hasil isolasi bakteri pada media natrium agar (NA) dari beberapa sampel agens hayati ditemukan beberapa jenis bakteri yang tumbuh. Untuk mengetahui kesesuaian antara jenis bakteri yang tumbuh dari hasil isolasi pada media NA dengan bakteri yang terkandung pada formulasi sampel agens hayati maka dilakukan pengujian lanjut.

Tabel 3. Uji Kesesuaian Produk Bakteri Sebagai Agens Hayati

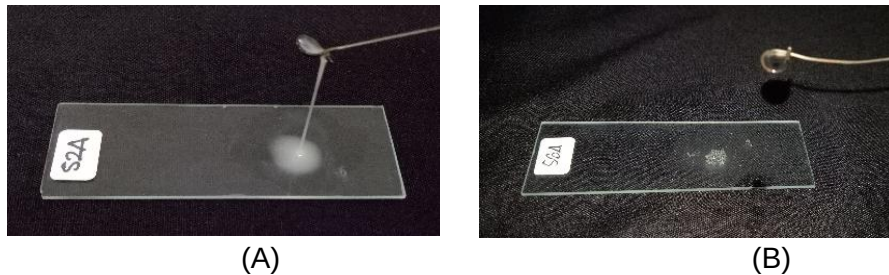
Jenis Uji	Kode Isolat					
	S1A	S1B	S2A	S4	S6	S7
KOH	-	-	+	-	+	+
Gram	-	-	+	-	+	+
Pewarnaan Spora	-	-	-	-	-	-
Oksidatif/ Fermentatif	aerob	aerob	TU	aerob	TU	TU
YDC	-	+	TU	-	TU	TU

Keterangan: (+) Reaksi positif ; (-) Reaksi Negatif; TU: Tidak Diuji

- Uji KOH

Pengujian lanjut yang dilakukan yaitu pengujian gram. Pengujian gram dilakukan dengan pewarnaan gram dan reaksi dengan KOH. Uji KOH dilakukan untuk mengetahui jenis bakteri yang dibiakkan termasuk dalam bakteri Gram negatif atau bakteri Gram positif. Beberapa isolat yang menunjukkan reaksi negatif terdapat pada isolat dengan kode S1A, S1B, dan S4. Hal ini ditandai dengan terbentuknya lendir saat dicampur KOH 3% (Gambar 8) . Sedangkan isolat dengan kode S2A, dan S6 dan S7 menunjukkan hasil uji positif ditandai dengan tidak terbentuknya lendir saat dicampur KOH 3% (Lampiran 2). Tidak terbentuknya lendir pada bakteri Gram positif karena dinding sel bakteri Gram positif lebih resisten

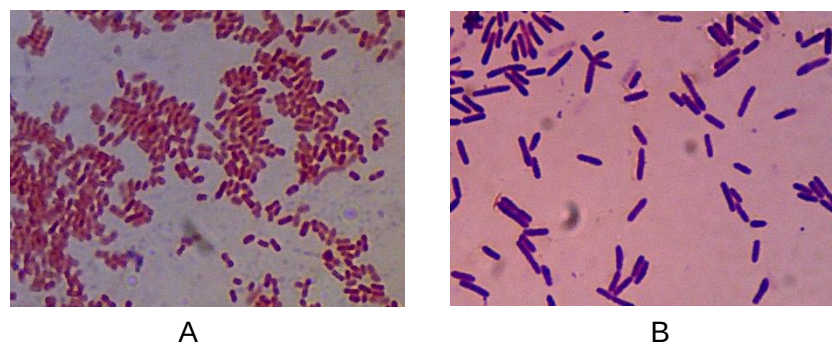
terhadap KOH sehingga dinding sel tidak pecah (Purwohadisantoso *et al.*, 2009) . Hal itu juga didukung oleh pernyataan Shivan dan Beasley (2005) yang menyatakan bahwa dinding sel bakteri gram negatif lebih sensitif dan tidak memiliki ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH. Sehingga apabila sel bakteri negatif direaksikan dengan larutan KOH akan menyebabkan dinding sel pecah dan terjadi lisis dan DNA dibebaskan. DNA berisifat sangat kental di dalam air, maka terbentuklah benang lendir.



Gambar 1. Uji KOH isolat bakteri dari salah satu produk agens hayati
(A) Reaksi negatif pada bakteri isolat S2A; (B) Reaksi positif pada bakteri isolat S6

- Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan membuat bekasan di gelas obyek, kemudian diwarnai dengan larutan kristal violet dan yodium secara bergantian selama beberapa menit, dan dicuci dengan aquades, selanjutnya dicuci dengan alkohol dan ditetesi dengan larutan safranin. Pengamatan dilakukan dengan menggunakan mikroskop perbesaran 1000x.

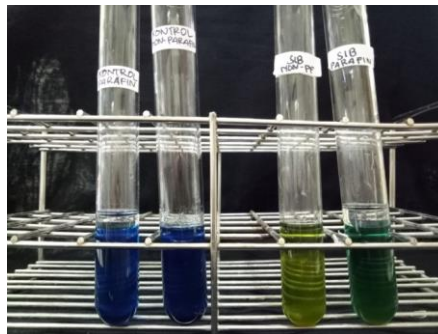


Gambar 2. Uji Gram bakteri pada salah satu produk agens hayati
(A) Bakteri Gram Negatif Isolat S1A,
(B) Bakteri Gram Positif Isolat S6.

Dari hasil uji pewarnaan Gram yang telah dilakukan ke seluruh isolat, kelompok bakteri Gram negatif terdapat pada isolat dengan kode S1A, S1B dan S4 (Lampiran 3). Hal ini ditandai dengan isolat tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet tetapi zat warna safranin dapat terserap pada dinding sel sehingga pada saat dilihat menggunakan mikroskop akan memperlihatkan warna merah (Gambar 9), sedangkan kelompok bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga ketika diamati dengan mikroskop akan menunjukkan warna ungu (Pratita dan Putra, 2012). Kelompok bakteri Gram positif terdapat pada isolat dengan kode S2A, B1, S6, dan S7. Setelah mengetahui Gram dari isolat-isolat yang telah didapatkan maka dilakukan uji oksidatif fermentatif (O/F) untuk isolat bakteri Gram negatif dan pewarnaan spora untuk isolat bakteri Gram positif.

- Uji Oksidatif Fermentatif (O/F)

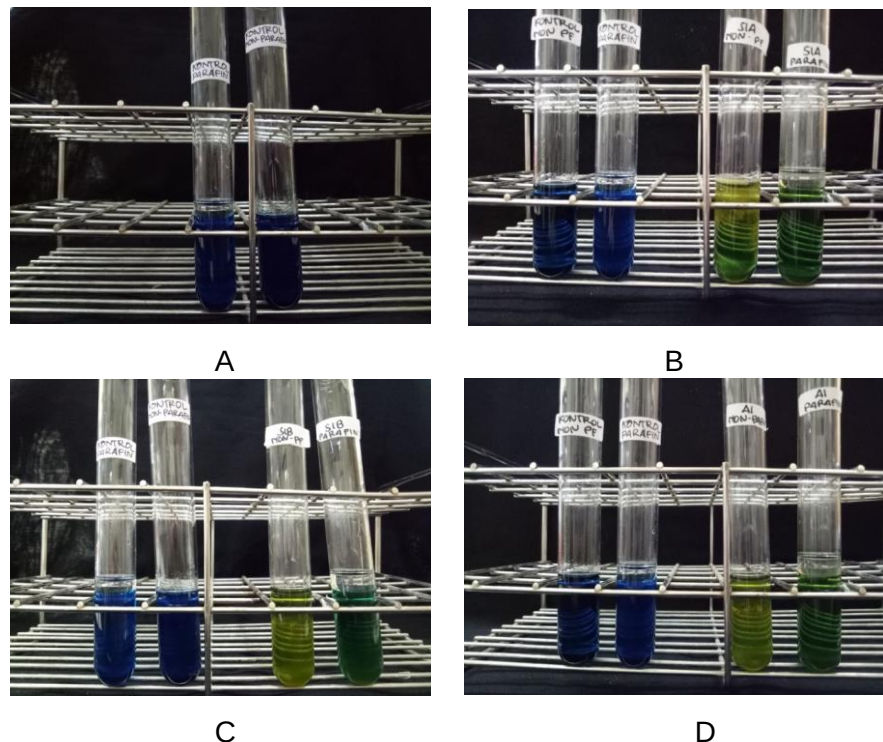
Uji O/F pada isolat bakteri Gram negatif dilakukan dengan mengisolasi bakteri pada media bernilai fermentatif terhadap glukosa. Hal ini dikarenakan media yang ditutup parafin berubah warna dari hijau menjadi kuning, maka bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi. Apabila terjadi perubahan warna dari hijau menjadi kuning pada kedua media (dengan atau tanpa parafin), hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat fermentatif. Sebaliknya jika terjadi perubahan warna kuning hanya pada tabung yang tidak diberi minyak parafin, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut bersifat oksidatif (Lelliot dan Stead 1987 dalam Masnilah dkk., 2013) (Gambar 10).



Gambar 3. Reaksi oksidatif pada Uji O/F isolat bakteri S1B

Dari isolat yang telah diuji hasilnya menunjukkan bahwa isolat bakteri S1A, S1B dan S4 termasuk dalam kelompok bakteri yang bersifat fermentatif terhadap glukosa (Gambar 11). Menurut Pratita dan Putra (2012) pada saat fermentasi, hanya bakteri yang bersifat aerob fakultatif yang dapat melakukan fermentasi glukosa sedangkan bersifat aerob obligat tidak dapat melakukan proses fermentasi glukosa.

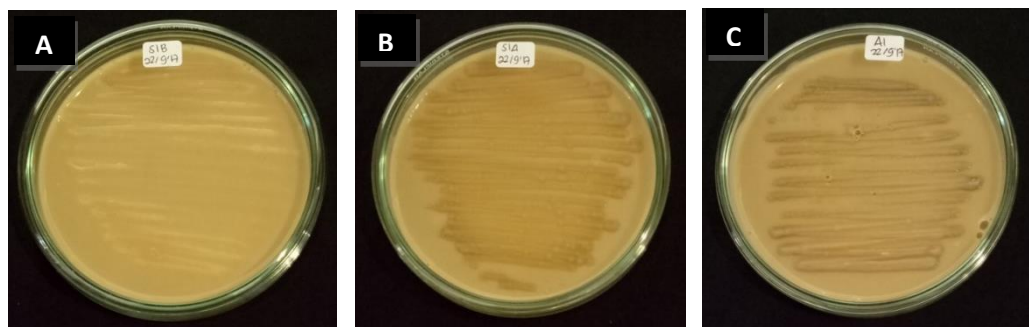
Hasil pada isolat bakteri S1A, S1B dan S4 menunjukkan bahwa isolat dapat melakukan fermentasi glukosa ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada media dari warna hijau menjadi kuning, sehingga bakteri mampu memanfaatkan karbohidrat pada kondisi anaerob melalui proses fermentasi (Anggraini *et al*, 2016). Dari isolat yang telah diuji maka diketahui bahwa isolat bakteri S1A, S1B dan S4 merupakan kelompok dari bakteri aerob, maka dilakukan pengujian lanjut yaitu dengan menumbuhkan isolat bakteri S1A, S1B dan S4 pada media YDC untuk mengetahui genus dari bakteri tersebut.



Gambar 4. Hasil Uji OF pada isolat bakteri S1A, S1B dan S4
(A) Tabung Kontrol Non Parafin dan Parafin; (B) Isolat S1A; (C)
Isolat S1B; (D) Isolat S4

- Penanaman Isolat Pada Media YDC

Yeast Dextrose Carbonat (YDC) merupakan salah satu media untuk membedakan pertumbuhan bakteri *Erwinia* sp. dengan *Pantoea* sp. . Bakteri uji digoreskan pada media YDC yang kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 33°C. Reaksi positif ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri berwarna kuning pada media (Simatupang,2008). Berdasarkan pengujian ini, terdapat satu isolat yang bersifat fermentatif dengan koloni berwarna kuning yaitu isolat dengan kode S1B diidentifikasi dengan menggunakan diagram kunci identifikasi Schaad NW *et al.*, (2001) bakteri ini tergolong dalam bakteri *Pantoea* sp. sedangkan pada isolat S1A dan S4 koloni tidak berubah menjadi warna kuning saat ditumbuhkan media YDC. Bakteri tersebut diidentifikasi sebagai *Erwinia* sp (Gambar 12).



Gambar 5. Hasil pengujian penanaman isolat pada media YDC
(A) Isolat S1A pada media YDC; (B) Isolat S1B pada media YDC;
(C) Isolat A1 pada media YDC

- Uji Pewarnaan Spora

Isolat bakteri Gram positif terdiri dari S2, S6, dan S7. Masing-masing isolat dilakukan pengujian lanjut yaitu uji pewarnaan spora untuk mengetahui apakah bakteri tersebut memiliki spora atau tidak. Pewarnaan spora dilakukan dengan menggunakan larutan *malachite green* dan larutan safranin (Waluyo, 2010). Dari hasil pewarnaan sebagian besar isolat tidak memiliki spora (Lampiran 4).

Kelompok bakteri pembentuk spora biasanya berbentuk bulat atau batang dan sebagian mempunyai filamen, berdiameter 0,3-2 μm (kecuali *Oscillospira*) (Errington, 2003). Dari hasil pewarnaan spora, dan pengamatan bentuk spora dibawah mikroskop maka isolat bakteri

dengan kode isolat S2, S6, dan S7 teridentifikasi sebagai bakteri *Corynebacterium* sp. . Hal ini dibuktikan dengan bentuk sel dari isolat-isolat tersebut yaitu berbentuk batang. Diameter koloni 0,1-0,3 μm . Koloni muncul diatas permukaan media NA. Warna koloni putih kilat agak krem, permukaan bakteri mengkilat. Bersifat aerob, tidak membentuk endospora dan menghasilkan enzim katalase (Heydiyah dan Shovitri, 2014) .

b. Kerapatan dan Morfologi Koloni Bakteri

Jenis bakteri yang telah diketahui sesuai dengan jenis produk yang ada dilabel kemasan selanjutnya dilakukan inkubasi selama 24 jam pada media NA menggunakan metode TPC (*Total Plate Count*) dengan cara *spread plate*. Berdasarkan hasil perhitungan kerapatan koloni, diperoleh hasil sebagai berikut (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Kesesuaian Formulasi Pada Produk Agens Hayati

No	Sampel	Jenis Bakteri Pada Sampel Produk AH	Kerapatan Bakteri Pada Sampel Produk AH	Jenis Bakteri yang Tumbuh Pada Media NA	Kode Bakteri	Kerapatan Bakteri yang Tumbuh Pada Media NA (cfu/ml)
1	BETA - Ramuan Tradisional (Produsen)	Tidak tertera di label	Tidak tertera di label	<i>Erwinia</i> sp.	S1A	5.66×10^{10}
				<i>Pantoea</i> sp.	S1B	4.62×10^{10}
2	BETA - Agens Hayati	<i>Corynebacterium</i> , <i>Basillus</i> sp. , <i>Pseudomonas</i> sp. , <i>Serratiamarcescent</i> , <i>Streptomyces</i> , <i>Streptococcus</i>	Tidak tertera di label	<i>Corynebacterium</i> sp.	S2A	5.6×10^9
3.	PORSEN - Agens Hayati	<i>Bacillus subtilis</i>	$3,4 \times 10^8$	<i>Erwinia</i> sp.	S4	2.06×10^{10}
		<i>Paecilomyces lilacinus</i>	$1,5 \times 10^8$	-	-	-
		<i>Bacteria Streotococcus Thermophilus</i>	$1,3 \times 10^9$	-	-	-
		<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	$1,5 \times 10^8$	-	-	-

Tabel 4. Hasil Kesesuaian Formulasi Pada Produk Agens Hayati (lanjutan)

No	Sampel	Jenis Bakteri Pada Sampel Produk AH	Kerapatan Bakteri Pada Sampel Produk AH	Jenis Bakteri yang Tumbuh Pada Media NA	Kode Bakteri	Kerapatan Bakteri yang Tumbuh Pada Media NA (cfu/ml)
4.	BETA - Ramuan Tradisional (Petani)	Tidak tertera di label	Tidak tertera di label	<i>Corynebacterium</i> sp.	S6	5.48×10^{12}
5.	Agens Hayati Tanpa Merk (Petani)	Tidak tertera di label	Tidak tertera di label	<i>Corynebacterium</i> sp.	S7	5.38×10^{12}
				-	-	-

Berdasarkan hasil perhitungan koloni bakteri, pada pengenceran 10^{-9} produk agens hayati yang salah satu komposisi formulasinya terdiri dari bakteri *Corynebacterium* sp. terdapat pada produk agens hayati BETA (Agens Hayati) dengan nilai kerapatan sebesar 5.6×10^9 cfu/ml. Hasil tersebut termasuk dalam kategori yang telah memenuhi syarat kualitas agens hayati yang baik, karena standar minimal kualitas agens hayati jenis bakteri yang baik menurut Universitas Brawijaya memiliki nilai sebesar 10^8 cfu/ml (Tim Fakultas Pertanian, 2015). Namun sangat disayangkan pada label kemasan produk agens hayati tersebut tidak dicantumkan nilai dari kerapatan bakteri *Corynebacterium* sp. yang terkandung didalamnya sehingga sulit untuk mencocokkan kesesuaian komposisi dari produk tersebut.

4.2.2 Peranan Bakteri Kontaminan di Lingkungan

Berdasarkan hasil pengujian kesesuaian produk agens hayati dari 5 sampel, diketahui hanya satu produk yang memiliki kesesuaian antara formulasi yang terkandung pada agens hayati dengan label komposisi yang tertera pada kemasannya. Pada produk agens hayati BETA hanya satu jenis bakteri yang ditemukan dan sesuai dengan komposisi yang tertera pada label yaitu *Corynebacterium* sp, sedangkan pada sampel lainnya terjadi kontaminan atau ketidaksesuaian antara bakteri yang ditemukan dengan formulasi yang tertera pada label kemasan masing-masing produk agens hayati tersebut. Dari hasil identifikasi bakteri, ditemukan beberapa jenis bakteri yang tidak sesuai dengan label kemasan yakni *Erwinia* sp dan *Pantoea* sp. Dari ketiga jenis bakteri

tersebut, masing-masing memiliki potensinya tersendiri dalam upaya menanggulangi permasalahan hama dan penyakit pada tanaman.

a. *Corynebacterium* sp.

Menurut Agrios (1997) bakteri *Corynebacterium* dapat diklasifikasikan sebagai berikut: kingdom Procaryotae (Bacteria); divisio Firmicutes; class Thallobacteria; family Streptomyceae; genus *Clavibacter*; species *Clavibacter* (*Corynebacterium* sp) .

Corynebacterium merupakan bakteri antagonis yang secara morfologis dapat dikenali dari bentuk elevasi cembung, berbentuk batang dan jenis gram positif, koloninya berwarna putih kotor dan dibawah lampu ultraviolet idak bereaksi (BPTPH, 2011). Ukuran bakteri *Corynebacterium* adalah 0,-0,9 x 1,5 – 4 μ m. Kadang-kadang mempunyai segmen berwarna dengan bentuk yang tidak menentu tetapi ada juga yang berbentuk gada yang membengkak. Bakteri ini umumnya tidak bergerak, tetapi beberapa spesiesnya ada yang bergerak dengan rata-rata dua bulu cambuk polar (Agriosdalam Ismail *et al.*, 2011).

Bakteri *Corynebacterium* termasuk bakteri gram positif karena dengan pewarnaan difernsial dengan larutan ungu kristal, sel bakteri berwarna ungu, tetapi ketika ditambahkan larutan safranin warna merah sel bakteri tidak menyerap larutan safranin sehingga tetap berwarna ungu. Bakteri gram positif pada umumnya bersifat non patogenik.

Pemanfaatan bakteri *Corynebacterium* sp. di bidang pertanian yaitu dengan penerapan system pengendalian hama terpadu (PHT) dengan cara memaksimalkan penerapan berbagai metode pengendalian hama secara komprihensif dan mengurangi penggunaan pestisida. Salah satu komponen tersebut adalah pengendalian hayati dengan memanfaatkan bakteri antagonis sebagai pengganti pestisida. Bakteri-bakteri antagonis ini dapat menghasilkan antibiotik dan siderofor juga bisa berperan sebagai kompetitor terhadap unsur hara bagi patogen tanaman (Hasanuddin dalam Manik 2011).

Bakteri *Corynebacterium* sp. merupakan salah satu agens hayati bersifat antagonis (agens antagonis) yang dapat mengendalikan beberapa jenis OPT seperti penyakit kresek pada tanaman padi yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas campestris* pv *oryzae* (Ismail *et al.*, 2011) . Efektifitas bakteri *Corynebacterium* sp. sebagai bakteri antagonis terhadap penyakit HDB cukup

baik dan *Corynebacterium* sp. menunjukkan penghambatan pada pemunculan gejala awal, penyebaran maupun intensitas serangan (BBPOPT, 2007).

Penggunaan bakteri *Corynebacterium* sebagai agens pengendali hayati juga dilakukan pada tanaman Krisan untuk mengenalkan penyakit Karat, dari hasil penelitian yang dilakukan (Hanudin *et al.*, 2010) diketahui bahwa dengan penambahan bakteri *Corynebacterium* pada konsentrasi 0,3% dapat menekan intensitas serangan *Puccinia horiana* sebanyak 38,49%, juga dapat mempertahankan hasil panen bunga Krisan layak jual 14,58%. Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat dipastikan bahwa bakteri *Corynebacterium* memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai agens hayati untuk pengendali penyakit Hawar Daun Bakteri (Kresek) (Ismail *et al.*, 2011).

b. Erwinia sp.

Bakteri *Erwinia* sp. merupakan bakteri patogen dari penyakit busuk lunak (*soft root*). Patogen busuk lunak *Erwinia*, termasuk dalam kelompok *Enterobacteriaceae*. Bakteri ini bersifat anaerobik fakultatif, berflagela peritrik, dan Gram negatif (De Boer dan Kelman, 2001). *Erwinia* sp. berukuran (0,5-1) x (1,5-4) μm . Menurut Semangun (2006) bakteri ini memiliki karakteristik berbentuk batang dan koloni berbentuk putih atau kuning.

Salah satu spesies dari genus *Erwinia* sp. yaitu *Erwinia carotovora* telah diketahui menjadi penyebab busuk lunak pada beberapa tanaman buah, sayuran dan tanaman hias. Gejala yang dihasilkan berupa hancurnya jaringan tumbuhan akibat adanya aktivitas pektolitik, warna daun menjadi pucat, dan gejalanya cepat meluas. Patogen penyebab busuk lunak menyerang jaringan parenkim dan menghancurkan lamela tengah kemudian diikuti oleh kematian sel (Sinaga, 2006).

Bakteri rizosfer seperti *B. subtilis* dan *P. fluorescens* diketahui memiliki potensi sebagai agensia pengendali hayati beberapa patogen tumbuhan (Habazar dan Yaherwandi, 2006). Kemampuan *B. subtilis* dan *P. fluorescens* sebagai agensia pengendalian hayati berkaitan dengan kemampuannya bersaing untuk mendapatkan zat makanan atau karena menghasilkan senyawa-senyawa metabolit. Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan Javandira *et al.*, (2013) pada uji antagonisme di cawan petri bahwa agens hayati *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* yang diinokulasi secara tunggal dan kombinasi keduanya memiliki potensi dalam mengendalikan penyakit busuk lunak umbi kentang (*Erwinia Carotovora*).

c. *Pantoea* sp.

Bakteri *Pantoea* sp. adalah salah satu genus bakteri Gram negatif dari famli *Enterobacteriaceae*. Genus ini terdiri dari 20 spesies. Spesies dari genus *Pantoea* dicirikan berdasarkan morfologi kooni, uji fisiologi, biokimia, analisis asam lemak, dan komposisi quinon. Salah satu medium yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri genus *Pantoea* adalah medium Hugh-Leifson (HL), medium ini digunkana untuk mengetahui isolat yang mampu menghasilkan glukosa secara naerobik (fementasi) (Desi *et al*, 2014).

Salah satu spesies dari genus bakteri *Pantoea* sp. yang sering ditemukan di lapang adalah *Pantoea stewartii* subsp. *Stewartii* . Bakteri ini adalah patogen penyebab penyakit layu stewart pada tanaman jagung yang baru diketahui keberadaanya di Indonesia. Penyakit ini bersifat tular benih (*seedborne pulicaria*). Gejala berupa klorosis pada permukaan daun, layu dan kerdil pada fase vegetatif sedangkan pada tanaman dewasa gejala berupa bercak hijau kekuningan pada permukaan daun yang disertai dengan matinya jaringan (klorosis) (Rahma & Armansyah, 2008). Perlakuan benih secara biologi menggunakan bakteri endofit dapat dijadikan sebagai alternatif pengganti bahan kimia sistesis. Keberadaan bakteri endofit di dalam jaringan tanaman selain mendapatkan nutrisi untuk perkembangan dan pertumbuhan tanaman ternyata juga memberi dampak terhadap perkembangan tanaman. bakteri endofit mampu meningkatkan perkecambahan benih dan meningkatkan pertumbuhan tanamaan (Rahma *et all*, 2014).

4.2.3 Kontrol Kualitas Jamur

a. Kesesuaian Produk

Uji kesesuaian formulasi jamur pada produk agens hayati dengan label yang tertera pada kemasan dilakukan dengan cara mengamati ciri koloni jamur dari produk agens hayati yang telah diisolasi pada media PDA (*Potato Dekstrore Agar*) selama 14 hari dan mengamati ciri spora jamur yang diproduksi oleh setiap produsen agens hayati pada beberapa wilayah di Kota Malang.

Berdasarkan hasil uji kesesuaian produk jamur dari beberapa produk agens hayati yang dijadikan sampel, secara makrokopis terdapat terdapat beberapa produk jamur yang tumbuh ketika ditumbuhkan di media PDA selama 14 hsi, namun semua produk jamur tersebut tidak sesuai dengan ciri jamur yang

ada pada komposisi formulasi yang tertera di label kemasan. Pada kenampakan secara mikroskopis bentuk spora produk jamur hasil isolasi dan purifikasi dari beberapa produk agens hayati yang dijadikan sampel tidak sesuai dengan bentuk spora jamur yang ada pada komposisi formulasi yang tertera di label kemasan (Tabel 5).

Tabel 5. Uji Kesesuaian Produk Jamur

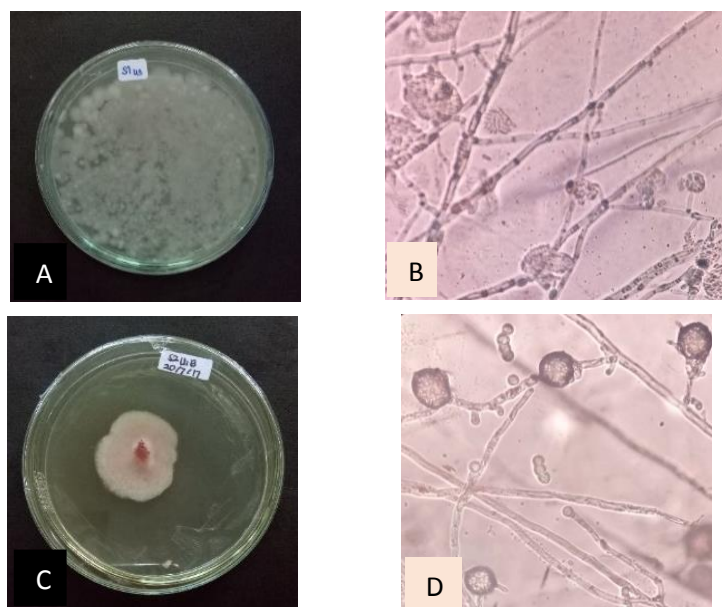
NO	SAMPSEL	KOMPOSISI JAMUR PADA PRODUK	HASIL ISOLASI		IDENTIFIKASI JAMUR
			Makroskopis	Mikroskopis	
1.	BETA - Ramuan Tradisional (Produsen)	Tidak tertera di label	Koloni berwarna putih, dan berstektur halus	Konidia berpigmen, fialid berukuran pendek, bercabang, konidia berbentuk globose hingga ovoid	<i>Phialophora</i> sp. (1)
2.	BETA-Agens Hayati	<i>Trichoderma</i> , <i>Beauveria</i> , <i>Metharizium</i> , <i>Gliocladium</i> , <i>Mikoriza</i>	Koloni kuning dan coklat berstektur halus	Konidia berpigmen, fialid berukuran pendek, bercabang, konidia berbentuk globose hingga ovoid	<i>Phialophora</i> sp. (2)
3..	Agens Hayati Tanpa Merk	<i>Trichoderma</i> sp.	Koloni berwarna hijau kekuningan	Konidia tersusun seperti rantai, metula bercabang, konidiofor berwarna hialin, berdinding halus	<i>Penicilium</i> sp. (1)
4.	PORSEN-Agens Hayati	<i>Trichoderma</i> sp., <i>Beauveria</i> sp., <i>Vertilicium</i> sp., <i>Metharizium</i> sp., <i>Mikoriza</i>	Koloni berwarna putih pucat	Konidia tersusun seperti rantai, metula bercabang, konidiofor berwarna hialin, berdinding halus	<i>Penicilium</i> sp. (2)
5.	BETA-Ramuan Tradisional (Petani)	Tidak tertera pada label kemasan	Koloni berwarna merah agak gelap, permukaan licin	Konodiofor tegak, membentuk massa spora pada ujung konodiofor, bentuknya meruncing secara bertahap menuju apeks	<i>Chloridium</i> sp.
6.	Agens Hayati Tanpa Merk (Petani)	Tidak tertera pada label kemasan	Koloni berwarna putih menuju oranye, permukaan licin	Konodiofor tegak, membentuk massa spora pada ujung konodiofor, bentuknya meruncing secara bertahap menuju apeks	<i>Chloridium</i> sp.

4.2.4 Peranan Jamur Kontaminan di Lingkungan

1. *Phialophora* sp.

Isolat yang termasuk dalam genus *Phialopora* sp. mempunyai ciri-ciri antara lain: konidia berpigmen terdiri dari satu sel dan membentuk suatu massa agregat, sedangkan konidiofornya tidak berkembang dengan baik. *Phialophora* sp. memiliki miselium berwarna putih, kuning, hingga coklat dan bertekstur halus (Gambar 13). *Phialophora* sp. memiliki fialid berukuran pendek, gelap,

sederhana atau bercabang, dan berbentuk seperti botol dengan struktur *collarete* pada bagian ujung tempat keluarnya konidia. Konidia berbentuk *globose* hingga *ovoid*, tersusun oleh 1 sel, subhialin hingga gelap, dan berukuran 6.31-11.24x2.56-3.82 μm (Tunarsih, 2013). Bentuk mikroskopis *Phialophora* sp. dapat dilihat pada Lampiran 5. dengan ciri-ciri yaitu koidia hialin sampai coklat yang berwarna kuning langsung, halus ber dinding, bulat telur silinder atau allantoid dan biasanya agregat dalam kepala berlendir pada apeks dari fialid, yang mungkin soliter atau dalam susunan yang mirip kuas (Isaroh, 2012).



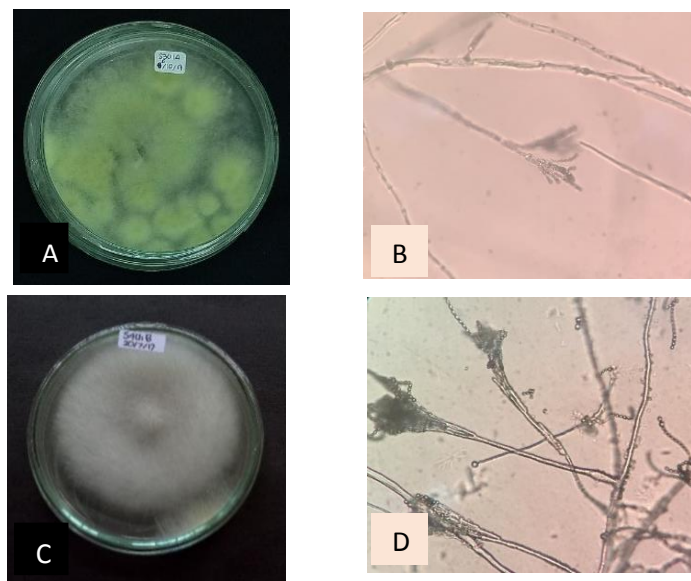
Gambar 6. A) Kenampakan makroskopis *Phialophora* sp. (1); B) Kenampakan mikroskopis *Phialophora* sp. (1); C) Kenampakan makroskopis *Phialophora* sp. (2); D) Kenampakan mikroskopis *Phialophora* sp. (2)

Pada penelitian yang dilakukan oleh Rosita *et al*,(2014) *Phialophora* sp. ditemukan pada tanah fibrik. Kapang ini bersifat kosmopolit, saprofit yang umumnya ditemukan di tanah, kayu yang membusuk dan bersifat parasit pada batang pohon. Baharuddin *et al*, (2009) menjelaskan bahwa kapang *Phialophora* sp. merupakan kapang yang dapat menginfeksi batang pohon yang masih hidup dan menginfeksi potongan-potongan batang yang sudah mati.

2. *Penicillium* sp.

Penicillium sp. memiliki konidia yang tersusun seperti rantai dan dihasilkan oleh *condiogenous cell* yang disebut fialid. Fialid dihasilkan oleh suatu struktur

yang disebut metula. Metula pada *Penicillium* dapat bercabang atau tidak bercabang. Struktur antara metula dengan konidiofor disebut *branch*. Konidiofor berwarna hialin, berdinding halus atau kasar. Fialid umumnya berbentuk seperti botol dengan ujungnya agak menyempit serta tersusun rapat seperti kuas. Konidia tersusun seperti rantai yang memanjang, berbentuk bulat atau agak lonjong, berwarna hialin atau kehijauan, serta berdinding halus atau kasa (Samson *et al.*, 2004).

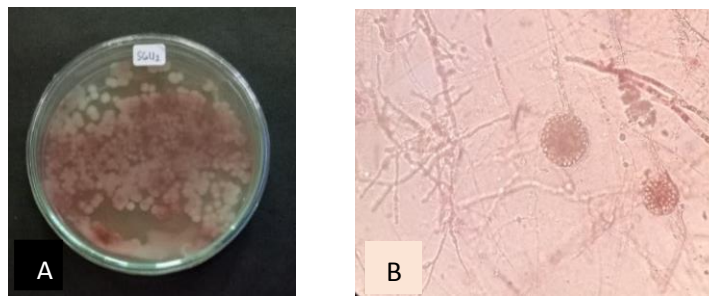


Gambar 7. A) Kenampakan makroskopis *Penicillium* sp. (1); B) Kenampakan mikroskopis *Penicillium* sp. (1); C) Kenampakan makroskopis *Penicillium* sp. (2); D) Kenampakan mikroskopis *Penicillium* sp. (2);

Penicillium sp. merupakan salah satu cendawan yang berpotensi sebagai pupuk hayati, karena cendawan ini merupakan cendawan yang memiliki kemampuan melarutkan P. Cendawan pelarut P adalah mikroba yang dapat menjadi kontributor penting dalam mobilisasi dan meningkatkan ketersediaan P bagi tanaman (El – Azouni, 2008). Salah satu spesies *Penicillium* , yaitu *P. bilaii* berperan dalam aktivitas pelarutan P terikat melalui produksi asam sitrat dan asam oksalat. Selain melarutkan P. *Penicillium* sp. merupakan jenis cendawan yang ditemukan sebagai endosimbion pada *Ficus benghalensis* (Suryanarayanam & Vijaykrishna, 2001). Mikrob yang dapat meningkatkan ketersediaan hara bagi tanaman akan lebih efektif jika berada di dalam jaringan tanaman, sebab unsur hara yang tersedia dapat langsung di transportasi ke tanaman (Wati, 2012).

4. *Chloridium* sp.

Chloridium sp. merupakan cendawan dari divisi Ascomycota, kelas Sordariomycetes, Ordo Chaetosphaeriales, famili Chaetosphaeraceae. *Chloridium* merupakan cendawan saprofit dan berperan dalam pelaukan kayu (Barnet & Hunter, 1998; But, et.al., 2001). Jamur *Chloridium* sp. memiliki konidiofor yang tegak, sederhana, septate, berwarna coklat, bentuknya meruncing secara bertahap menuju apeks dengan terminal phialid. Konidia phialosporous berbentuk silinder atau elips, hialin, bersel satu, seing mengembang bersama dalam dua bagian. Jamur ini menyerupai genus *Gonytrichum*, membentuk massa spora pada ujung konidiofor namun masih dapat dibedakan antara konidiofor sederhana atau bercabang (Watanabe, 2002).



Gambar 8. A) Kenampakan makroskopis *Chloridium* sp.
; B) Kenampakan mikroskopis *Chloridium* sp.

Menurut Rosfiansyah *et.al.* (2017) cendawan *Chloridium* sp merupakan salah satu cendawan di dalam tanah yang mempunyai peran secara alami untuk menjaga fungsi tanah, mengendalikan produktivitasnya dan berperan dalam pengendalian hayati organisme pengganggu tanaman. Genus dari *Chloridium* memiliki peran dalam proses biofertilizer tanah.