

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Pengertian Agens Hayati sebagai Pengendali Hayati

Agens hayati atau agens pengendali hayati (*biological control agents*) dikenal petani sebagai musuh alami. Musuh alami sebagian besar terdiri dari kelompok organisme serangga, kelompok vertebrata; nematoda; jasad renik; dan invertebrata diluar serangga mampu mengendalikan hama penyakit dan termasuk dalam golongan agens hayati (Untung, 2007). Agens hayati merupakan organisme yang terbagi ke dalam kelompok predator, parasitoid, dan patogen yang mampu mengendalikan organisme pengganggu tanaman (OPT). Berikut merupakan penjelasan mengenai agens hayati sesuai dengan fungsi dalam mengendalikan OPT:

Predator merupakan binatang yang memburu, memakan, atau menghisap cairan tubuh inang lain sehingga menyebabkan kematian (Trisnadi, 2015). Beberapa contoh musuh alami dari golongan predator antara lain adalah *Paederus* sp. atau dikenal sebagai nama Tomket merupakan predator dari hama kutu-kutuan, *Nilaparvata lugens*, dan *Myzus* sp. Kelompok Arachnida (laba-laba) sebagai pemangsa hama tanaman *Leptocorisa acuta*; *Stagmomantis carolina* merupakan predator hama *L. acuta*, ulat, dan imago dari penggerek.

Parasitoid merupakan serangga yang hidup pada tubuh serangga inang dan membunuh secara perlahan (Trisnadi, 2015). Berdasarkan inang, parasitoid dibagi dalam 3 golongan yaitu parasitoid telur, parasitoid larva, dan parasitoid imago (Trisnadi, 2015).

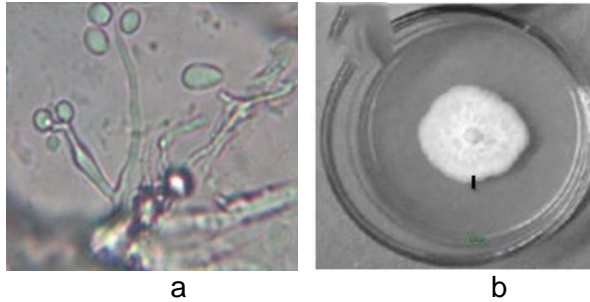
Patogen adalah mikroorganisme (virus, bakteri, jamur, nematoda, protozoa, dan rikettsia) yang dapat menyebabkan infeksi dan menimbulkan penyakit pada OPT (Trisnadi, 2015). Agens hayati dalam bentuk patogen dikelompokkan menjadi dua, yaitu sebagai patogen serangga (entomopatogen) dan agens antagonis patogen tumbuhan (Kurniawati, 2016). Berikut ini beberapa macam jenis agens hayati sebagai patogen yang dikembangkan dalam penelitian pengendalian hayati di Indonesia:

Patogen Serangga (Entomopatogen)

Beberapa penelitian membuktikan bahwa terdapat berbagai macam jenis entomopatogen yang mampu digunakan untuk mengendalikan hama pada tanaman seperti jamur *Beauveria bassiana* dan *Lecanicilium lecanii* yang efektif untuk mengendalikan serangga hama.

1. *Beauveria bassiana*

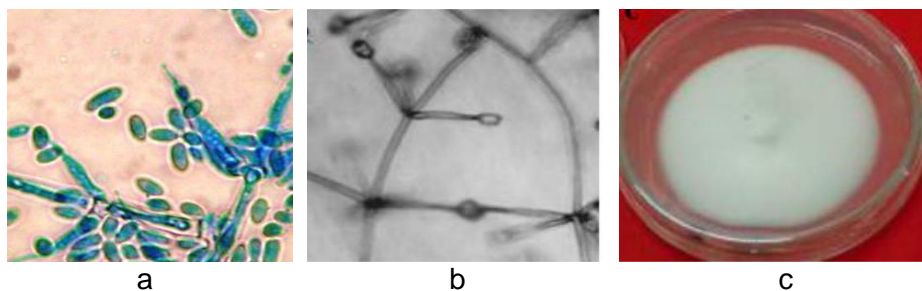
B. bassiana memiliki inang dalam golongan Filum Arthropoda, diantaranya ialah Ordo Homoptera, Lepidoptera, Coleoptera, Hymenoptera dan Diptera (Zimmermann, 2007). Ciri makroskopis (Gambar 1.b) dari jamur *Beauveria* sp. ialah memiliki miselium berwarna putih seperti kapas (Barnett dan Hunter, 1998). Bentuk mikroskopis *B. bassiana* (Gambar 1.a) memiliki konidia yang tidak bersepta berbentuk bundar dan hialin serta tidak berwarna (Permadi, 2016).



Gambar 1. *B. bassiana* a. Mikroskopis (Balitbangtan, 2015), b. Makroskopis (Purnama *et al.*, 2003)

2. *Lecanicilium lecanii*

L. lecanii merupakan salah satu jamur entomopatogen mampu mengatasi serangga yang memiliki tipe mulut mengisap termasuk dalam ordo Homoptera, Hemiptera, Thysanoptera dan Acari (Shinde *et al.*, 2010). *L. lecanii* termasuk dalam jamur Deutromycota, ciri dari jamur ini ialah ketika ditumbuhkan di media PDA memiliki miselium berwarna putih (Gambar 2.c). Bentuk mikroskopis dari *L. lecanii* yaitu konidia berupa silinder hingga elips terdiri dari satu sel dengan konidiofor membentuk huruf V, tidak berwarna (hialin) dan berukuran $1,9 - 2,2 \times 5,0 - 6,1 \mu\text{m}$ (Gambar 2.a dan b) (Khaerati dan Gusti Indriati, 2015).

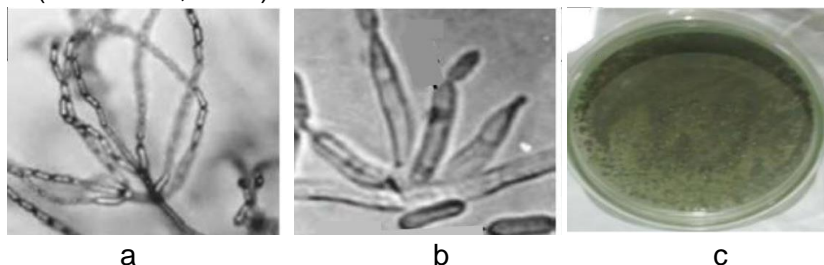


Gambar 2. *L. lecanii*, a. Konidia (Ana, 2015), b. Konidiofor, c. Miselium (Watanabe, 2002., Khaerati dan Indriati, 2015)

3. *Metarhizium anisopliae*

Jamur entomopatogen *M. anisopliae* mampu mengendalikan berbagai jenis serangga, terutama Ordo Coleoptera, Orthoptera, Hemiptera (Zimmermann, 2007). *M. anisopliae* memiliki warna koloni hijau kekuningan ketika ditumbuhkan

pada media PDA (Gambar 3.c). Ciri mikroskopis *M. anisopliae* memiliki bentuk konidia silindris, hialin (Gambar 3.a). Konidiofor sering bersatu membentuk sporodchia, tunggal atau bercabang, fialid berada dipercabangan (Gambar 3.b). Konidiofor memiliki tinggi 40-80 μ m, fialid 9.7-35.3 x 2.1-2.7 μ m, konidia 6.3-9.8 x 2.1-2.5 μ m (Watanabe, 2002).



Gambar 3. *M. anisopliae*, a. Konidiofor, b. Konidia, c. Miselium (Watanabe, 2002., Yanti, 2013)

Agens antagonis

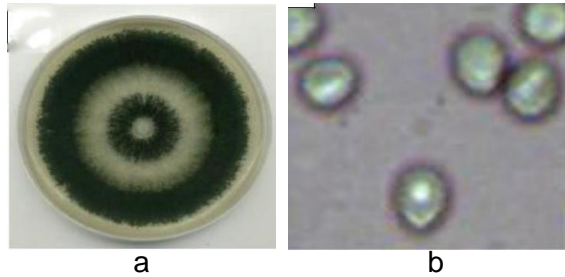
Agens hayati dapat menjadi antagonis pada patogen yang menyebabkan kerusakan pada tanaman. Agens antagonis dapat berupa cendawan, seperti *Gliocladium* sp., *Trichoderma* sp., *Aspergillus* sp., dan *Penicillium* sp. Cendawan mengendalikan patogen *Phytophthora* sp. dengan kemampuan kompetisi, antibiosis, lisis, dan parasitisme (Octriana, 2011). Bakteri *B. subtilis* dan *P. fluorescens* mampu mengendalikan bakteri patogen *Erwinia carotovora* (Javandira, 2013). Agens antagonis lain berupa jamur *Verticillium* sp., ragi *Rhodotorula rubra*, dan bakteri *B. subtilis* dapat mengendalikan penyakit cacar akibat patogen *Exobasidium vexans* Masee (Rayati, 2011). Berikut merupakan agens antagonis yang mulai banyak dikembangkan dan dimanfaatkan oleh petani:

1. *Trichoderma harzianum*

Trichoderma sp. berperan sebagai agens antagonis penyakit tanaman melalui mekanisme secara langsung dan tidak langsung. *Trichoderma* sp. memiliki kemampuan mikoparasitisme dengan menghasilkan enzim litik dan senyawa anti mikroba dalam mekanisme langsung. Sedangkan secara tidak langsung *Trichoderma* sp. menjadi pesaing patogen tanaman dalam mendapatkan nutrisi dan tempat tumbuh (Zhang *et al.*, 2016).

Ciri mikroskopis dari jamur *T. harzianum* adalah konidia berbentuk bulat hingga oval (Gambar 4.b), konidifor hialin, tegak, bercabang, produksi spora secara masal berada di apikal dan vertikal percabangan fialid, fialid pendek dan tipis, kladiospora coklat dan berbentuk subgolbe. Kenampakan makroskopis (Gambar 4.a) jamur *T. harzianum* pada media PDA memiliki ciri berwarna hijau gelap dengan warna kekuningan (Watanabe, 2002). Koloni yang tumbuh memiliki

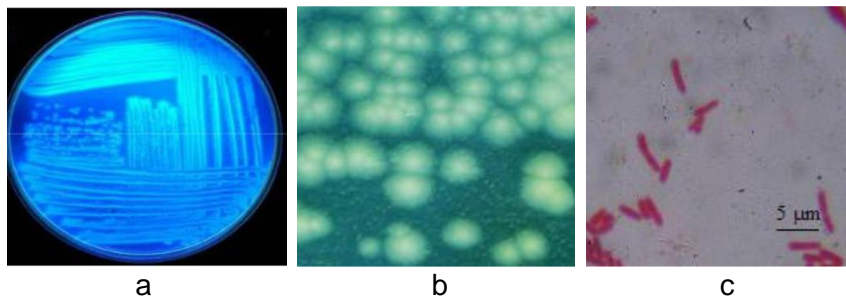
bentuk lebih tebal dan padat di bagian tengah serta semakin menipis di bagian tepi koloni (Shah *et al.*, 2012).



Gambar 4. *T. harzianum*, a. Miselium, b. Konidia (Majid *et al.*, 2015)

2. *Pseudomonas fluorescens*

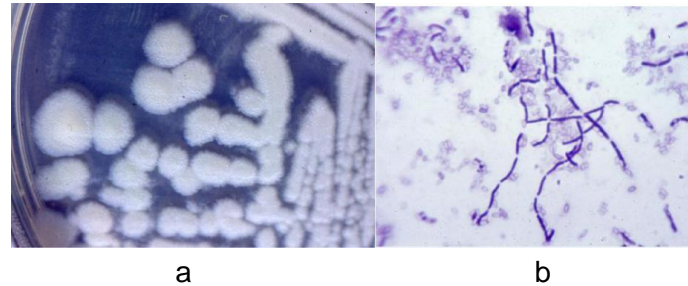
Pertumbuhan koloni *P. fluorescens* pada media King's B yaitu koloni berwarna kuning kehijauan dengan tekstur koloni halus, elevasi cembung, tepi halus beraturan, bentuk koloni bulat beraturan (Gambar 5.b). *P. fluorescens* mampu berpendar di bawah sinar UV (Gambar 5.a) (Soesanto *et al.*, 2011). Bakteri *Pseudomonas* sp. memiliki bentuk mikroskopis batang tunggal dengan ukuran 0,5 – 1,0 x 1,5 – 3,0 μ m (Wulansari, 2015).



Gambar 5. *P. fluorescens*, a. Berpendar, b. Koloni pada Media Kings'B, c. Pewarnaan Gram (Nawangsih, 2006 ; Astuti, 2008)

3. *Bacillus subtilis*

B. subtilis adalah bakteri antagonis di air, tanah, udara, dan sisa tanaman yang telah membusuk. Aplikasi *B. subtilis* dengan cara *seed coating* sehingga bakteri berkembang pada sistem perakaran tanaman. Bakteri berkompetisi dan menekan cendawan tular tanah seperti *R. solani* dan *Fusarium* sp. *B. subtilis* hidup pada sistem perakaran dan melindungi tanaman sepanjang musim tanam (EPA, 2015). *Bacillus* sp. memiliki bentuk mikroskopis berupa batang berantai (Gambar 6.b) dengan ukuran 0,6 – 2,0 x 1,2 – 4,0 μ m (Wulansari, 2015). Kenampakan koloni *B. subtilis* pada media NA yaitu berbentuk bulat besar dengan permukaan rata, kasar, dan berwarna krem (Hanudin *et al.*, 2012).

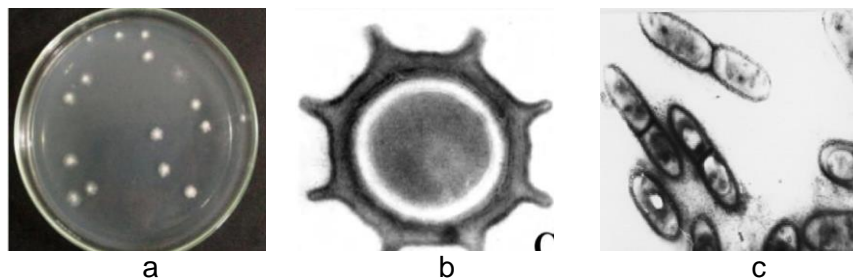


Gambar 6 *B. subtilis*, a. Koloni, b. Uji Gram (Hogan, 2011; Hogan, 2012)

4. *Paenibacillus polymyxa*

P. polymyxa merupakan bakteri yang termasuk dalam golongan genus *Bacillus*. *P. polymyxa* digunakan sebagai bakteri antagonis dalam agens hayati. Bakteri *P. polymyxa* secara alami berada di tanah, terdapat pada rizhosfer atau akar tanaman. *P. polymyxa* memiliki kelebihan dapat menfiksasi nitrogen, membantu pertumbuhan tanaman, pelarut fosfor, menghasilkan enzim hidrolitik dan sitokinin sebagai antibiotik (Lal *et. al*, 2009).

Bakteri antagonis *P. polymyxa* memiliki gram positif (+) dengan bentuk sel batang tanpa flagel (*nonmotile*) (Gambar 7.c), mampu memproduksi endospora (Gambar 7.b), panjang sel 1,8 – 2,2 μm dan lebar 0,6 – 0,8 μm . *P. polymyxa* merupakan bakteri aerob dengan reaksi katalase positif (+), namun tidak dapat mereduksi nitrat. Bakteri *P. polymyxa* dapat bertahan hidup pada suhu mencapai 85°C dalam waktu 30 menit. *P. polymyxa* mampu menjadi agens antagonis bagi patogen *R. solani* (Wang *et al.*, 2010).



Gambar 7. *P. polymyxa*; a. Koloni, b. Spora, c. Mikroskopis (Kurniawati *et al.*, 2015; Raza *et al.*, 2008; Wang *et al.*, 2010)

2.2 Faktor-faktor Pengaruh Mutu Agens Hayati

Mutu menentukan keefektifan agens hayati dalam mengendalikan OPT. Beberapa penelitian telah dilakukan terdapat faktor yang mampu mempengaruhi perkembangan dan mutu dari agens hayati. Keberhasilan agens hayati dalam mengendalikan hama sangat dipengaruhi oleh faktor internal diantaranya kerapatan konidia/koloni, viabilitas spora yang kontak dengan hama, kemampuan sporulasi dan strain jamur yang digunakan (Susniahti, 2005). Selain

itu, peneliti berpendapat bahwa kondisi lingkungan juga sangat berpengaruh seperti temperatur, kelembaban, dan sinar matahari (Susniahti, 2005).

Kerapatan Konidia dalam penelitian menyatakan bahwa *L. lecanii* dengan kerapatan konidia $4,9 \times 10^8$ konidia/ml mampu menyebabkan mortalitas pada *M. persicae* (Susniahti, 2005). Konsentrasi spora *T. harzianum* isolat Sulawesi 10^{11} spora/ml efektif dalam mengendalikan *Phytophthora palmivora* (Oktaviana, 2016). Kerapatan konidia yang tinggi membutuhkan waktu yang pendek untuk menyebabkan mortalitas (Ulfa, 2015).

Viabilitas merupakan kemampuan suatu spesies dalam bertahan hidup dan menyesuaikan diri terhadap perubahan keadaan lingkungan (Nopiyanti, 2013). Viabilitas suatu mikroba dipengaruhi oleh media tumbuh dan formulasi yang dapat menyimpan sumber makanan bagi bakteri sehingga dapat meningkatkan jumlah log sel (Nopiyanti, 2013). Viabilitas merupakan salah satu faktor yang dapat menentukan mutu agens hayati, perlu dilakukan pengawasan terhadap viabilitas mikroba selama masa penyimpanan produk inokulan (Nasahi, 2010). Pengawasan perlu dilakukan supaya viabilitas mikroba tetap stabil saat aplikasi. Agens hayati yang dinilai baik memiliki viabilitas 95% (Untung, 2007). Viabilitas yang telah dikemas dapat mengalami penurunan viabilitas dalam tiga sampai enam bulan masa simpan (Nasahi, 2010).

Media Perbanyak Produk Agens Hayati sebagai nutrisi yang digunakan pada proses perbanyak. Media pembawa yang digunakan mengandung protein dan karbohidrat yang dibutuhkan oleh mikroba sebagai nutrisi. Media perbanyak yang baik untuk digunakan adalah beras, jagung untuk media padat (Gusnawaty *et al.*, 2017). Media pembawa beras mampu dijadikan sebagai sumber nutrisi saat masa simpan produk agens hayati dan mampu mempertahankan viabilitas (Gusmara, 2011). Media cair dapat menggunakan sari kentang yang mengandung nutrisi di dalamnya dan mudah untuk ditemukan (Majid, 2015).

Kondisi Lingkungan

Kondisi pH (derajat kemasaman). Pada ekologi suatu pertanaman khususnya ekologi di dalam tanah agens hayati sebagai agens antagonis yang diterapkan sering mengalami penurunan kemampuan untuk mengendalikan suatu patogen tanaman, dan banyak disebabkan akibat faktor lingkungan seperti curah hujan, pH tanah, kelembaban, serta kondisi tanah terutama kondisi pH. Kondisi pH yang dikehendaki untuk agens hayati yaitu berkisar antara empat

sampai enam untuk dapat mendukung pertumbuhannya (Shabrina, 2010). Terdapat penelitian yang menyatakan bahwa pH menunjukkan kisaran 5,4 sampai 6,8 baik untuk pertumbuhan jamur dan perkecambahan spora (Fety *et al.*, 2015).

Suhu dan kelembaban berpengaruh untuk habitat tumbuh jamur dan hasil perhitungan viabilitas. Suhu yang dikehendaki untuk pertumbuhan jamur dan bakteri dalam kisaran 27° C dan kelembapan 60% hingga 78%. Kelembaban dapat mempengaruhi spora untuk perkecambahan kelompok fungi. Namun, kelembaban juga memberi kesempatan untuk banyak jenis fungi menghasilkan spora dan memunculkan bakteri agens antagonis (Mustafa, 2011).

2.3 Pengujian Mutu Agens Hayati

Kegiatan uji mutu produk agens hayati untuk mengetahui mutu dan keberlanjutan produk yang telah dibuat, Uji mutu dilakukan dengan cara pemantauan terhadap terknik perbanyakan, cara produksi, pengemasan hingga penyimpanan, dan yang terpenting ialah pengujian mutu produk (Syahnen *et al.*, 2014). Uji mutu produk agens hayati merupakan cara yang digunakan untuk menjamin mutu produk agens pengendali hayati. Fungsi lain dilakukan pengujian ialah mampu meningkatkan kepercayaan pelanggan akan mutu dari produk agens hayati yang digunakan (Syahnen *et al.*, 2014). Pengujian mutu agens hayati dilakukan dengan perhitungan kerapatan konidia dan viabilitas sebagai indikator utama penentuan mutu produk agens hayati (Lacey, 2016).

Viabilitas spora dikatakan berkecambah jika telah memiliki ekor atau *germ tube* yang panjangnya mencapai dua kali diameter spora atau pembengkakan dari spora (Herlinda, 2010). Agens hayati yang dinilai baik jika memiliki viabilitas 95% (Untung, 2007). Viabilitas spora yang dikatakan baik jika memiliki viabilitas >85-100%, dikatakan sedang jika memiliki viabilitas sebesar >70-85%, dan dikatakan kurang jika memiliki viabilitas sebesar <55-70% (Ramli, 2004).

Pada bakteri *P. fluorescens* menunjukkan kestabilan dalam 60 hari masa penyimpanan dalam formulasi talkum (Asita, 2013). Pengamatan terhadap warna koloni, ukuran konidia, kerapatan hifa, dan viabilitas dilakukan pada jamur *B. bassiana* untuk menunjukkan mutu sebagai pengendali hama (Utami, 2014). Perhitungan viabilitas dilakukan pada formulasi cair dan tepung untuk mengetahui kestabilan daya tumbuh suatu mikroba agens hayati (Wijayanti, 2014).

Perhitungan Kerapatan dapat diterapkan pada jamur dan bakteri. Pada jamur, perhitungan kerapatan konidia/ koloni merupakan jumlah konidia yang dihasilkan saat pemanenan. Kerapatan konidia suatu jamur sangat dipengaruhi oleh viabilitas, semakin baik viabilitas maka kerapatan konidia yang dihasilkan semakin tinggi (Ernanda, 2013). Konsentrasi kerapatan tinggi menyediakan ruang bagi konidia untuk menempel, berkecambah dan melakukan penetrasi (Khoiroh *et al.*, 2014).

Kerapatan konidia yang dimiliki oleh suatu produk agens hayati akan berbeda sesuai dengan formulasi bahan pembawanya (Lacey, 2016). Salah satu contohnya adalah jamur *B. bassiana* pada formulasi *powder* (padat) memiliki kerapatan spora $1,2 \times 10^{11}$ konidia/ml dengan viabilitas 90% dan pada *oil* (cair) memiliki kerapatan konidia $2,2 \times 10^{13}$ konidia/ml dengan viabilitas yang hanya 80% (Lacey, 2016).

2.4 Lembaga dalam Penentuan Mutu Agens Hayati

Pengendalian biologis menggunakan agens hayati mulai marak digunakan oleh petani dalam sistem budidaya. Pemenuhan kebutuhan agens hayati dilakukan dengan melibatkan beberapa pihak maupun lembaga, diantaranya :

Laboratorium Pengamat Hama Penyakit (LPHP) merupakan lembaga pemerintah yang berperan sebagai wadah dalam melakukan kegiatan Pengendalian Organisme Pengganggu Tumbuhan (POPT), pembinaan di tingkat lapang serta mengembangkan teknologi terapan dalam bidang perlindungan tanaman sistem pertanian PHT. Kegiatan utama yang dilakukan oleh LPHP merupakan Pengamatan, Peramalan, dan Pengendalian Organisme Pengganggu Tanaman (P3OPT) (Iswari, 2016).

LPHP merupakan rujukan dalam pengembangan dan diseminasi teknologi perlindungan tanaman pangan ramah lingkungan yang mendukung prinsip-prinsip PHT. Kegiatan LPHP dalam pengembangan teknologi ramah lingkungan dengan eksplorasi, perbanyakan, pengembangan, dan pemasyarakatan agens hayati atau pestisida nabati (Permana, 2015).

Pos Pelayanan Agens Hayati (PPAH) merupakan suatu wadah bagi petani yang telah lulus maupun petani yang tidak mengikuti Sekolah Lapang Pengendalian Hama Terpadu (SL-PHT) dengan tujuan sama, PPAH mendukung penerapan prinsip-prinsip PHT dengan cara menyiapkan, memperbanyak, menerapkan, mengembangkan dan menyebarluaskan sarana produksi ramah

lingkungan (Susetyo, 2016). PPAH memiliki Standar Operasional Prosedur (SOP) dalam menjalankan tugas dan fungsi sebagai penyedia agens hayati. Keberadaan SOP dalam PPAH dapat memberi kemudahan bagi petugas atau tim sebagai pedoman dalam melaksanakan pekerjaan rutin dan disiplin dalam bekerja (Razak, 2012).

2.5 Standar Operasional Prosedur (SOP) Kegiatan di PPAH

SOP merupakan salah satu alat yang digunakan dalam melakukan suatu kegiatan. Dengan adanya penyusunan SOP dapat dijadikan sebagai tolak ukur dalam menilai efektivitas dan efisiensi pelaksanaan program kerja (Atmoko, 2004). SOP berfungsi untuk memberikan kejelasan mengenai prosedur kerja, tanggung jawab dalam melakukan suatu proses, meminimalisir kesalahan dalam melakukan pekerjaan, dan membantu dalam melakukan evaluasi terhadap setiap proses pekerjaan (Razak, 2012).

SOP yang ada dalam kegiatan PPAH diharapkan mampu mempertahankan mutu produk agens hayati. SOP yang perlu dilakukan adalah kegiatan pengendalian mutu (*Quality Control*) dirancang untuk mengukur dan menilai mutu suatu produk atau jasa yang diberikan kepada pelanggan (penerima) (Kemetrian Pembantu Umum, 2007). Pengendalian mutu yang dilakukan secara langsung yang biasa dilakukan yaitu melalui pemantauan (*Monitoring*), supervisi, dan penguatan kapasitas pelaku (Kemetrian Pembantu Umum, 2007).

Kelembagaan memiliki standar umum PPAH sebaiknya memiliki dua seksi yaitu seksi produksi dan pemasyarakatan serta seksi pengembangan SDM dan studi. Seksi produksi dan pemasyarakatan bertugas merencanakan kebutuhan pengembangan prasarana dan sarana PPAH, merencanakan dan memproduksi ramah lingkungan yang mendukung penerapan prinsip – prinsip PHT; melakukan pencatatan jumlah penyaluran dan stok produksi; mendapatkan isolat dan pengujian mutu agens hayati dari dan ke LPHP; memelihara dan menjaga keamanan prasarana dan sarana PPAH; melakukan penyebarluasan informasi (display, leaflet, brosur, spanduk dan poster) mengenai kegiatan dan manfaat pengembangan sarana produksi ramah lingkungan yang mendukung penerapan prinsip – prinsip PHT kepada aparat Desa/Kecamatan dan berbagai lapisan masyarakat; menyusun dan mengajukan proposal kerja sama pengembangan sarana produksi ramah lingkungan yang mendukung penerapan prinsip – prinsip PHT (Susetyo, 2016).

Sarana Prasarana minimal yang diperlukan oleh PPAH bangunan atau ruangan yang berfungsi sebagai tempat prasarana, sarana dan aktivitas untuk mendukung kegiatan. Peralatan minimal yang ada, meliputi 1 buah inkas dilengkapi dengan lampu ultra violet (UV), lampu bunsen, jarum ose; 1 set aerator dandang untuk sterilisasi; 1 set kompor gas; refrigerator/lemari es; tabung reaksi; petridish; 1 set alat penumbuk; jerigen 10 liter; jet sprayer; blender; tong plastik / drum; hand sprayer serta alat press. Dana anggaran yang diperlukan untuk mendukung kelancaran pelaksanaan kegiatan dapat diperoleh dari beberapa sumber seperti Pemerintah (pusat, provinsi, Kabupaten / Kota); swadana dari PPAH dan dari pihak swasta dan sumber – sumber dana lain yang tidak mengikat (Susetyo, 2016).

Kegiatan PPAH yang utama adalah perbanyakan agens hayati, meliputi tahapan kegiatan eksplorasi, isolasi dan perbanyakan. Tahapan eksplorasi merupakan proses pencarian bahan agens hayati potensial, yang berasal dari jenis serangga, tanah, atau bahan tanaman. Hasil eskplorasi dikirim ke LPHP atau Perguruan Tinggi. Eksplorasi dilakukan oleh PPAH, petugas lapangan, petugas LPHP, atau Perguruan Tinggi (Susetyo, 2016).

Isolasi adalah proses pemurnian untuk memperoleh agens hayati yang diinginkan, isolasi harus dilakukan oleh LPHP, Balai Besar Peramalan Organisme Pengganggu Tumbuhan (BBPOPT) Jatisari, atau Perguruan Tinggi. Setelah diperoleh biakan murni, kemudian dilakukan perbanyakan isolat. Isolasi dapat dilaksanakan dengan berbagai metode sesuai dengan jenis dan sifat mikroorganisme. Perbanyakan agens hayati dilakukan oleh PPAH, hasil perbanyakan agens hayati oleh PPAH perlu dilakukan uji mutu antara lain mencakup kerapatan spora/koloni, viabilitas dan patogenesitas yang dilakukan oleh LPHP / LAH, BBPOPT, dan/atau Perguruan Tinggi. Aplikasi dilakukan oleh petani pengguna dibawah pengawasan PPAH atau LPHP. Evaluasi dilakukan oleh PPAH, POPT-PHP, LPHP/LAH, UPTD BTPH Provinsi, dan / atau BBPOPT Jatisari (Susetyo, 2016).

Perbanyakan agens hayati dilakukan dengan tahapan, yaitu (1) sterilisasi alat, (2) pembuatan media, (3) inokulasi agens hayati, (4) fermentasi agens hayati. Sterilisasi alat dianjurkan dicuci menggunakan deterjen dan dibilas air panas kemudian dikeringkan, setelah kering disemprot alkohol. Pembuatan media dilakukan dengan media yang telah direkomendasikan dan sterilisasi lebih dari 30 menit yaitu satu sampai enam jam. Inokulasi agens hayati dilakukan

dalam inkas, jika tidak dalam inkas harus dilakukan dengan steril (menyemprotkan alkohol). Isolat yang dibutuhkan dalam inokulasi adalah tiga sampai empat isolat untuk ukuran 18 liter (satu galon). Fermentasi dilakukan kurang lebih dua minggu (Majid, 2015).

2.6 Uji Kontaminasi Bakteri Patogen Manusia

Kegiatan pengendalian mutu (*quality control*) yang dilakukan tidak akan lepas dari penjaminan mutu (*quality assurance*). Kedua hal ini saling berkaitan dalam kegiatan produksi suatu barang maupun menyediakan suatu jasa. Produk akan dinyatakan terjamin jika dalam proses *quality control* menunjukkan hasil yang baik dan sesuai standar (Widihastuti, 2006). Penjaminan mutu suatu produk agens hayati adalah dengan mengetahui keamanan bagi lingkungan maupun petani (Moazami, 2011). Penjaminan mutu dengan melakukan uji kontaminasi bakteri patogen bagi manusia seperti bakteri *Escherchia coli* (*Eubacteriales: Enterobacteriaceae*) dan *Salmonella* sp. (*Enterobacteriales: Enterobacteriaceae*).

E. coli merupakan bakteri gram negatif yang mampu menjadi patogen pada manusia yaitu penyakit diare. Bakteri *E.coli* merupakan bakteri anaerob fakultatif mampu hidup dalam keadaan aerob maupun anaerob. Suhu optimum yang dibutuhkan bakteri *E. coli* untuk hidup adalah 37°C, dengan pH optimum pada 7,0 – 7,5 serta akan mati melalui proses pasteurisasi. Penyebaran bakteri ini sendiri adalah dari proses pengolahan produk yang tidak sempurna serta tahap pengolahannya dekat atau berkontak langsung dengan feses dari usus manusia maupun hewan (Lubis, 2015). Kenampakan koloni bakteri *E. coli* (Gambar 8.a) berwarna merah atau merah muda sama dengan media Mac Conkey's Agar yang digunakan (Atmojo, 2016).

***Salmonella* sp.** merupakan bakteri yang tergolong pada golongan enterik dengan bentuk koloni bulat, kecil, tidak berwarna atau transparan, berwarna hitam di tengah pada media Mac Conkey's Agar (Gambar 8.b). Bakteri *Salmonella* sp. memiliki gram negatif (-), *motile* dengan bentuk mikroskopis batang, berukuran panjang 1 – 3,5 µm lebar 0,5 – 0,8 µm. *Salmonella* sp. merupakan bakteri anaerob fakultatif yang tidak memiliki spora. Bakteri *Salmonella* sp. akan tumbuh baik pada suhu optimum 35° - 37°C dan akan berhenti pertumbuhannya pada suhu <6,7°C atau >46,6°C. *Salmonella* sp. dapat tumbuh di luar tubuh makhluk hidup dan bertahan hidup di air selama 4 minggu pada pH 7,2. Penyebaran bakteri melalui feses kemudian mencemari sumber air

yang digunakan untuk melakukan pengolahan produk. Bakteri *Salmonella* sp. berbahaya bagi manusia, dapat menyebabkan penyakit *typhus* (Lubis, 2015).



Gambar 8. Koloni di Media Mac Conkey's Agar; a. *E. coli*, b. *Salmonella* sp.