UJI ANTAGONIS BAKTERI ASAM LAKTAT TERPILIH TERHADAP JAMUR *Sclerotium rolfsii* Sacc. PENYEBAB PENYAKIT REBAH KECAMBAH PADA TANAMAN KEDELAI

Oleh :

DEBORA NASTITI HARDIANTI

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
MALANG

2018

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

UJI ANTAGONIS BAKTERI ASAM LAKTAT TERPILIH TERHADAP JAMUR *Sclerotium rolfsii* Sacc. PENYEBAB PENYAKIT REBAH KECAMBAH PADA TANAMAN KEDELAI

OLEH

DEBORA NASTITI HARDIANTI

145040207111028

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT PERLINDUNGAN TANAMAN

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh

Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA
FAKULTAS PERTANIAN
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN
MALANG
2018

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang tertulis dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil penjiplakan (plagiasi), maka saya bersedia sanksi atas perbuatan tersebut, sesuai hukum yang berlaku di Indonesia.

Malang, November 2018

Mahasiswa,

Debora Nastiti Hardianti

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	: Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat Terpilih Terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai
Nama Mahasiswa	: Debora Nastiti Hardianti
NIM	: 145040207111028
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Pembimbing Pendamping,

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Penguji II

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Penguji III

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji IV

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 03 JAN 2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

"Sukses di Dunia dan Akhirat, Hidup dan Mati Masuk Surga"

Skripsi ini kupersembahkan untuk Tuhan Yesus,

Orangtua, Saudara dan Teman-teman yang kusayangi ...

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

Debora Nastiti Hardianti. 145040207111028. Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat Asal Terpilih Terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai. Dibawah bimbingan Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP. sebagai pembimbing utama dan Antok Wahyu S., SP., MP. sebagai pembimbing pendamping.

Umumnya di Indonesia masih menggunakan bahan-bahan kimia sintetis untuk mengendalikan patogen pada tanaman. Setelah berkembangnya teknologi dibidang pertanian, pengendalian patogen beralih memanfaatkan agen antagonis baik bakteri maupun jamur. Pada penelitian ini menggunakan bakteri asam laktat dari fermentasi sawi hijau untuk melihat potensi antagonis bakteri tersebut terhadap salah satu patogen tanaman yaitu *Sclerotium rolfsii* Sacc. Bakteri asam laktat dapat ditemukan di tanaman, hewan maupun manusia. Namun, bakteri dari fermentasi sawi hijau lebih banyak ditemukan jenisnya.

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengidentifikasi jenis bakteri asam laktat yang ditemukan di fermentasi sayur sawi hijau dan menganalisis pengaruh bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan jamur *S. rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2018 hingga Oktober 2018. Adapun tempat pelaksanaan penelitian ini di Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur, di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH). Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan enam perlakuan dan empat kali ulangan. Jika terdapat perbedaan yang nyata maka dilakukan uji lanjut DMRT pada taraf 5%.

Hasil dari penelitian ini, pada fermentasi sawi hijau telah ditemukan total 5 bakteri asam laktat yang diduga termasuk kedalam genus Lactobacillus. Kemudian, dari 5 bakteri asam laktat tersebut diuji potensi antagonisme terhadap jamur patogen pada tanaman kedelai yaitu *S. rolfsii.* Kelima isolat bakteri asam laktat mampu menekan pertumbuhan dari jamur patogen tersebut. Isolat terbaik yang mampu menekan pertumbuhan jamur patogen tersebut adalah isolat B4 dan B3.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

SUMMARY

Debora Nastiti Hardianti. 145040207111028. Antagonist Test of Selected Lactic Acid Bacteria Against *Sclerotium rolfsii* Sacc. Fungi Causes of Sprouts Disease in Soybean Plants. Supervised by Dr. Anton Muhibuddin., SP., MP. as main supervisior dan Antok Wahyu S., SP., MP. companion supervisor.

Generally in Indonesia still use synthetic chemicals to control pathogens in plants. After the development of technology in agriculture, controlling pathogens has switched to using antagonistic agents both bacteria and fungi. In this research using lactic acid bacteria from green mustard fermentation to see the potential of the bacterial against one of the plant pathogens, *Sclerotium rolfsii* Sacc. Lactic acid bacteria can be found in plants, animals and humans. However, more types of bacteria from green mustard fermentation are found.

The purpose of this research was to identify the types of lactic acid bacteria found in fermented green mustard and analyze the effect of lactic acid bacteria on the growth of *S. rolfsii* fungus which caused sprouting disease in soybean plants. The research was conducted in July 2018 until October 2018. The location of this research was in Brawijaya University, Malang, East Java, at the Laboratory of Plant Diseases, Department of Plant Pest and Disease, Faculty of Agriculture and the Central Laboratory of Life Sciences (LSIH). This study used a completely randomized design with six treatments and four replications. If there are significant differences, for further tested using DMRT tests at the level of 5%.

The results of this research, in the fermentation of green mustard have found a total of 5 lactic acid bacteria that are thought to belong to the genus Lactobacillus. Then, from the 5 lactic acid bacteria tested the potential antagonism of pathogenic fungi on soybean plants namely *S. rolfsii*. The five lactic acid bacteria isolates are able to suppress the growth of the pathogenic fungi. The best isolates capable of suppressing the growth of these pathogenic fungi were isolates B4 and B3.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan YME atas berkat, rahmat dan karunia-Nya kepada seluruh hamba-Nya sehingga dapat menyelesaikan penelitian skripsi ini dengan judul "Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat Terpilih Terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai".

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan laporan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada :

1. Orang tua dan saudara-saudari saya yang selalu memberikan dukungan material maupun moril.
2. Dr. Anton Muhibuddin SP.,MP, selaku dosen pembimbing skripsi utama dan Antok Wahyu S., SP., MP, selaku dosen pembimbing pendamping atas segala kesabaran, kebaikan hati dan kesediaan waktunya untuk membimbing penulis hingga terselesaikan skripsi ini.
3. Rifqa Annisa dan Ira Yuliani P., selaku teman penulis yang telah memberikan dukungan, semangat, motivasi dan telah bersedia meluangkan waktu berdiskusi dalam proses penyusunan laporan skripsi ini.
4. Girl's Generation dan Red Velvet yang telah memberikan motivasi, semangat dan menghibur melalui karya-karya musiknya.
5. Semua pihak yang telah berkontribusi dalam penyusunan laporan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penyusunan laporan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis akan menerima segala kritik dan saran yang membangun demi tercapainya lapoaran skripsi yang baik. Semoga laporan skripsi ini dapat memberikan manfaat bagi pembaca dan juga penulis.

Malang, Oktober 2018

Penulis

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Jember, 7 Mei 1996 sebagai putri ketiga dari empat bersaudara dari pasangan bapak Hari Prasodjo dan Dian Kartika.

Penulis menempuh pendidikan di TK Xaverius pada tahun 2002, pendidikan sekolah dasar di SD Xaverius pada tahun 2002, SDN Kayu Ambon 3, Lembang pada tahun 2004, SDA Jakasampurna, Bekasi pada tahun 2006, SDA Semarang pada tahun 2008, pendidikan sekolah menengah pertama diselesaikan di SMP Krista Mitra, Semarang pada tahun 2011, dan pendidikan sekolah menengah atas diselesaikan di SMA Krista Mitra, Semarang pada tahun 2014. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Studi Agroekoteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang, Jawa Timur melalui jalur Seleksi Penerimaan Minat dan Kemampuan (SPMK).

Selama menjadi mahasiswa penulis pernah menjadi anggota pengurus TEGAZS Departemen BITSI 2015. Penulis juga pernah mengikuti kegiatan magang kerja di SEAMEO BIOTROP, Bogor, Jawa Barat.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN ..... **i**
SUMMARY ..... **ii**
KATA PENGANTAR ..... **iii**
RIWAYAT HIDUP ..... **iv**
DAFTAR ISI ..... **v**
DAFTAR TABEL ..... **vii**
DAFTAR GAMBAR ..... **viii**
I. PENDAHULUAN **1**
1. 1 Latar Belakang 1
1. 2 Rumusan Masalah 2
1. 3 Tujuan Penelitian 2
1. 4 Hipotesis Penelitian 2
1. 5 Manfaat Penelitian 2
II. TINJAUAN PUSTAKA **3**
2.1 Tanaman Sawi Hijau 3
2.2 Fermentasi Sawi Hijau 4
2.3 Bakteri Asam Laktat 5
2.4 Jamur *Sclerotium rolfsii* 7
2.5 Pengendalian Hayati 9
III. METODOLOGI **11**
3.1 Waktu dan Tempat 11
3.2 Alat dan Bahan 11
3.3 Pelaksanaan Penelitian 11
3.3.1 Pengambilan sampel Bakteri 11
3.3.2 Pembuatan Media 11
3.3.3 Isolasi Bakteri 12
3.3.4 Purifikasi Bakteri 12
3.3.5 Identifikasi Bakteri 13
3.3.6 Uji Hipersensitif 16
3.3.7 Isolasi, Identifikasi dan Perbanyakan Patogen *Sclerotium rolfsii* ... 17
3.3.8 Uji Antagonis Secara *In Vitro* 18
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN **20**
4.1 Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat 20
4.2 Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Isolasi 21
4.2.1 Karakteristik Morfologi 21
4.2.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia 24
4.3 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat 29
4.4 Uji Hipersensitif 30
4.5 Hasil Isolasi, Identifikasi dan Perbanyakan *Sclerotium rolfsii* 31

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.6 Uji Antagonis secara *In Vitro* 33
V. PENUTUP 36
5. 1 Kesimpulan 36
5. 2 Saran 36
DAFTAR PUSTAKA 37
LAMPIRAN 45

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR TABEL

Nomor Halaman

Teks

1. Karakteristik Morfologi Bakteri Asam laktat Asal Fermentasi Sawi Hijau 21
2. Uji Larutan KOH 3% Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 24
3. Pewarnaan Gram Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 24
4. Pewarnaan Endospora Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 25
5. Uji Katalase Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 26
6. Uji Tiga Suhu Pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 27
7. Uji Toleransi NaCl Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 29
8. Karakterisasi Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi 30
9. Rerata Diameter Miselia Patogen *Sclerotium rolfsii* terhadap Bakteri Asam Laktat 35

Lampiran

1. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur *S. rolfsii* oleh Bakteri Asam Laktat secara *In Vitro* pada 12 Jam Setelah Inokulasi 45
2. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur *S. rolfsii* oleh Bakteri Asam Laktat secara *In Vitro* pada 24 Jam Setelah Inokulasi 45
3. Analisis Ragam Persentase Penghambatan Pertumbuhan Jamur *S. rolfsii* oleh Bakteri Asam Laktat secara *In Vitro* pada 36 Jam Setelah Inokulasi 45
4. Hasil Uji Toleransi Bakteri Asam Laktat terhadap NaCl 46
5. Hasil Uji Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat pada Suhu Berbeda 47

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Nomor Halaman

Teks

1. Sayur Sawi Hijau 3
2. Produk Sawi Asin 4
3. Gejala penyakit oleh jamur *S. rolfsii*. (a) Miselium pada daun dan (b) Sklerotium pada batang 8
4. (a) Sklerotia pada media agar (b) Klam koneksi pada hifa 8
5. Skema Pewarnaan Gram 14
6. Skema Uji KOH 3% 15
7. Skema Uji Katalase 15
8. Cara Kerja Uji Hipersensitif. (a) Membuat sedikit goresan menggunakan jarum, (b) Menginjeksi aquades sebagai kontrol, (c) Menginjeksi isolat bakteri. 17
9. Metode oposisi pada uji antagonis. (a) Isolat Bakteri dan (b) Isolat jamur *S. rolfsii* 19
10. (a) Sampel sayur sawi asin saat fermentasi hari ke-5, (b) Koloni bakteri hasil isolasi pada pengenceran 10^{-4} (c) Koloni bakteri hasil isolasi pada pengenceran 10^{-5}. 20
11. (a) Koloni bakteri isolat B1 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 32x. 21
12. (a) Koloni bakteri isolat B2 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 50x. 22
13. (a) Koloni bakteri isolat B3 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 40x. 22
14. (a) Koloni bakteri isolat B4 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 25x. 23
15. (a) Koloni bakteri isolat B5 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 56x. 23
16. (a) Hasil uji KOH 3% bakteri isolat B4 (tidak lengket / berlendir), (b) Hasil pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri isolat B4 pada perbesaran 1000x. 25
17. (a) Hasil Uji Pewarnaan spora bakteri isolat B3 pada perbesaran 1000x dan (b) Bakteri berendospora pada perbesaran 1000x 26
18. (a) Hasil Uji Katalase bakteri isolat B2 (reaksi negatif), (b) Literatur Hasil uji katalase reaksi positif dan negatif 27
19. Hasil pertumbuhan isolat bakteri pada media MRS-*Broth* dengan suhu berbeda. (a) Isolat B2 suhu 15˚C, (b) Isolat B3 suhu 30˚C, (c) Isolat B1 suhu 45˚C dan (d) kontrol. 28
20. Hasil pertumbuhan isolat bakteri pada media MRS-*Broth* dengan kadar NaCl yang berbeda. (a) kontrol, (b) Isolat B2 NaCl 4%, (c) Isolat B2 NaCl 6,5 % 29
21. Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau (a,b) gejala nekrotik, (b) Perlakuan kontrol dengan akuades dan (c) perlakuan isolat B1 dan B2. 31

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

22. (a) Hasil Isolasi Sklerotia *S. rolfsii*, (b) miselium *S. rolfsii* setelah purifikasi, (c) Sklerotia berwarna putih dan (d) Sklerotia berwarna kecoklatan 32
23. Morfologi Sclerotium rolfsii pada perbesaran 400x. (a) Klam koneksi pada hifa *S. rolfsii* dan (b) Septa pada hifa *S. rolfsii* 33
24. Hasil Uji Antagonis BAL terhadap *S. rolfsii* pada media PDA. (a) Perlakuan kontrol dengan akuades, (b) Isolat bakteri B1, (c) Isolat bakteri B2, (d) Perlakuan B3, (e) Perlakuan B4 dan (f) Perlakuan B5..... 34

Lampiran

1. Hasil Uji KOH (3%) Bakteri Asam Laktat..... 48
2. Hasil Pewarnaan Gram Bakteri Asam Laktat 49
3. Hasil Uji Katalase Bakteri Asam Laktat 50
4. Hasil Pewarnaan Spora Bakteri Asam Laktat..... 51
5. Hasil Uji Hipersensitif Bakteri Asam Laktat 52
6. Gambar Diagram Alur Identifikasi Bakteri Gram Positif Berbentuk Batang (basil) 53

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I

Prof. Ir. Liliek Sulistyowati, Ph.D.
NIP. 19551212 198003 2 003

Penguji II

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Penguji III

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Penguji IV

Dr. Ir. Aminudin Afandhi, MS.
NIP. 19580208 198212 1 001

Tanggal Lulus : 03 JAN 2019

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Penelitian	: Uji Antagonis Bakteri Asam Laktat Terpilih Terhadap Jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Kecambah pada Tanaman Kedelai
Nama Mahasiswa	: Debora Nastiti Hardianti
NIM	: 145040207111028
Jurusan	: Hama dan Penyakit Tumbuhan
Program Studi	: Agroekoteknologi

Disetujui

Pembimbing Utama,

Dr. Anton Muhibuddin, SP., MP.
NIP. 19771130 200501 1 002

Pembimbing Pendamping,

Antok Wahyu Sektiono, SP., MP.
NIK. 201304 841014 1 001

Diketahui,
Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan

Dr. Ir. Ludji Pantja Astuti, MS.
NIP. 19551018 198601 2 001

Tanggal Persetujuan :

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

I. PENDAHULUAN

1. 1 Latar Belakang

Pada lingkup pertanian khususnya aspek perlindungan tanaman (*plant protection*), istilah agen antagonis sebagai pengendalian hayati sudah tidak asing. Agen antagonis dapat berupa mikroba jamur maupun bakteri. Namun, seiring berkembangnya ilmu pengetahuan, agen antagonis semakin bertambah jumlah dan jenisnya. Salah satunya untuk bakteri antagonis adalah dari golongan bakteri asam laktat. Dalam pengendalian penyakit pada tanaman di Indonesia, umumnya masih sedikit sekali yang menggunakan bakteri asam laktat. Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat seringkali digunakan untuk pengendalian penyakit pada pencernaan manusia yang disebabkan oleh bakteri seperti *Escherichia coli* dan *Salmonella enteritidis* (Campana *et al*., 2017; Kleerebezem *et al*., 2017; Carvalho *et al*., 2017). Selain itu, bakteri asam laktat juga digunakan sebagai pengawet alami dalam produk fermentasi dalam kemasan. Hal tersebut dapat dilakukan karena bakteri asam laktat mampu menghasilkan bakteriosin yang dapat menurunkan mikroba patogen dan pembusuk pada produk bahan pangan sehingga mampu meningkatkan mutu dan daya simpan produk tersebut (Fawzya, 2010). Namun, berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan, bakteri ini tidak bersifat patogen dan menurut Maunatin dan Khanifa (2012), bakteri ini dapat menghasilkan senyawa antimikroba seperti bakteriosin dans memiliki aktivitas anti jamur (*antifungal*).

Selain itu, bakteri ini juga tidak sulit ditemukan karena bakteri asam laktat dapat ditemukan di perairan, tanah, lumpur maupun batuan dan dapat menempel pada tanaman,hewan serta manusia. Berdasarkan beberapa penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, bakteri asam laktat ini lebih mudah diisolasi dari berbagai bentuk fermentasi baik fermentasi sayur maupun buah-buahan. Bakteri asam laktat yang paling banyak ditemukan berdasarkan literatur adalah fermentasi sayur sawi hijau dengan hasil akhir berupa produk sawi asin (Sulistiani *et al*., 2014; Mangunwardoyo *et al*., 2016). Hal ini dikarenakan pada pembuatan fermentasi sayur sawi hijau ini menggunakan air kelapa dan juga garam yang menjadi faktor penunjang pertumbuhan bakteri asam laktat. Dengan begitu, pada penelitian kali ini akan dilakukan uji potensi antagonis bakteri asam laktat dari fermentasi sayur sawi hijau terhadap salah satu patogen pada tanaman yaitu jamur *Sclerotium rolfsii* Sacc. penyebab penyakit rebah kecambah di tanaman kedelai. Hal ini dikarenakan *S. rolfsii* adalah salah satu jamur yang

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

mampu tumbuh pada suhu bervariasi mulai dari 10˚C hingga 40˚C (Lolong *et al*., 2016). Suhu pertumbuhan tersebut juga sesuai dengan suhu pertumbuhan bakteri asam laktat menurut Khalid (2011) yaitu bakteri asam laktat dapat tumbuh dari suhu 10˚C hingga 45˚C. Selain itu untuk pertumbuhannya, bakteri asam laktat mendapatkan nutrisi dari jenis gula seperti glukosa dan sama perihalnya dengan jamur *S. rolfsii*, sehingga dalam uji potensi antagonis secara *in vitro* hasilnya akan lebih akurat dan tidak condong mendominasi karena karena adanya persamaan suhu dan media sebagai sumber nutrisi yang digunakan.

1. 2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, adapun rumusan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Apa saja jenis bakteri asam laktat yang ditemukan di fermentasi sawi hijau?
2. Bagaimana pengaruh bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai?

1. 3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengidentifikasi jenis bakteri asam laktat yang ditemukan di fermentasi sayur sawi hijau.
2. Untuk menganalisis pengaruh bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai?

1. 4 Hipotesis Penelitian

Hipotesis dari penelitian ini adalah bakteri asam laktat dapat memberikan pengaruh melalui adanya penghambatan pertumbuhan terhadap jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai.

1. 5 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat dari penelitian ini adalah Mahasiswa mampu mempelajari, mempraktekkan dan menganalisis secara langsung di laboratorium sehingga dapat menambah pengetahuan serta pengalaman mahasiswa tentang pengaruh bakteri asam laktat terhadap pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai. Selain itu juga dapat menjadi sumber informasi baru terhadap pengendalian patogen tanaman melalui agen hayati.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Sawi Hijau

Menurut Rukmana (2002), tanaman sawi hijau diklasifikasikan sebagai berikut :

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Angiospermae
Ordo : Brassicales
Famili : Brassicaceae
Genus : Brassica
Spesies : *Brassica juncea* L.

Tanaman sawi termasuk kedalam salah satu tanaman semusim yang digemari oleh masyarakat karena memiliki banyak khasiat (Haryanto *et al*., 2007). Pada umumnya, tanaman sawi memiliki bentuk daun yang lonjong hingga berbentuk keriting, halus dan tidak berbulu. Menurut Haryanto *et al*. (2007), tanaman sawi hijau memiliki bentuk yang tidak berbeda jauh dengan sawi putih. Sawi hijau memiliki ukuran yang lebih kecil dan warnanya lebih hijau tua dibandingkan dengan sawi putih. Selain itu, batang sawi hijau cenderung pendek tetapi tegap dan tangkai daunnya agak pipih. Kemudian, pelepah daun sawi hijau tersusun saling membungkus dengan pelepah daun yang lebih muda tetapi tetap membuka. Tulang daun dari tanaman sawi hijau ini bentuknya menyirip dan bercabang (Kurniadi, 1992).

Gambar 1. Sayur Sawi Hijau (Haryanto, 2007)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Menurut Rukmana (2002), tanaman sawi hijau umumnya mudah berbunga dan berbiji secara alami, baik di dataran tinggi maupun di dataran rendah. Struktur bunga sawi hijau tersusun dalam tangkai bunga yang tumbuh memanjang (tinggi) dan bercabang banyak. Tiap kuntum bunga sawi hijau terdiri atas empat helai daun kelopak, empat helai daun mahkota bunga berwarna kuning cerah, empat helai benang sari dan satu buah putik yang berongga dua. Buah sawi hijau termasuk tipe buah polong, yakni bentuknya memanjang dan berongga. Tiap buah (polong) berisi 2-8 butir biji yang berbentuk bulat dengan permukaan yang licin, mengkilap, agak keras dan berwarna coklat kehitaman (Cahyono, 2003) .

Tanaman sawi dapat bertumbuh dengan baik ditempat yang memiliki udara panas maupun dingin. Menurut Haryanto *et al.* (2007), tanaman sawi hijau dapat ditanam mulai dari ketinggian 5 mdpl hingga 1.200 mdpl. Namun, umumnya di Indonesia tanaman ini ditanam sekitar 100 mdpl hingga 500 mdpl. Kemudian, tanaman sawi ini dapat tumbuh pada suhu 15°C hingga 32°C dan kelembaban udara 80-90% (Rukmana, 2002). Selain itu, menurut Istarofah dan Salamah (2017), tanah gembur mengandung humus dan pH 6-7 merupakan kondisi tanah yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangan dari tanaman sawi ini.

2.2 Fermentasi Sawi Hijau

Sayur sawi hijau cenderung memiliki rasa pahit jika dikonsumsi. Menurut Haryanto *et al.* (2007), hal ini menyebabkan beberapa konsumen membuat fermentasi sayur sawi hijau yang kemudian menjadi produk sayur sawi asin untuk dikonsumsi. Selain itu, sayur sawi hijau ini merupakan produk segar yaitu produk yang memiliki kandungan air yang tinggi sehingga sayur mudah rusak dan tidak tahan lama (Soekartawi, 2005). Hal tersebut juga mendorong konsumen untuk memfermentasikan sayur sawi hijau ini agar lebih awet.

Gambar 2. Produk Sawi Asin (Marsigit dan hemiyatti, 2018)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Fermentasi sawi hijau biasanya dibuat dengan cara menambahkan garam kedalamnya. Menurut Marsigit dan hemiyatti (2018), peran garam dalam fermentasi sawi hijau ini sangatlah penting karena garam berfungsi sebagai pencegah tumbuhnya bakteri lain sebelum bakteri asam laktat ini tumbuh. Selain itu, garam juga berfungsi sebagai pengekstrak sari dari sayur tersebut. Bakteri yang berperan dalam pembuatan produk sayur sawi asin ini adalah bakteri asam laktat yang berasal dari genus Lactobacillus, Pediococcus maupun Leuconostoc. Bakteri asam laktat tersebut memfermentasikan dengan cara menguraikan glukosa (Marsigit dan hemiyatti, 2018). Kemudian, selain menggungakan air garam, dalam fermentasi pembuatan produk sayur sawi asin juga ditambahkan dengan air kelapa. Hal ini dikarenakan air kelapa mengandung nutrisi yang mendukung pertumbuhan dari bakteri asam laktat seperti kandungan total gula air kelapa sebanyak 5,6% (Shobahiya, 2017). Pada hasil akhir dari fermentasi sawi hijau, biasanya warna air fermentasi berubah warna menjadi keruh, berbau asam, dan warna sawi hijau menjadi pucat kecokelatan setelah 3-5 hari fermentasi (Marsigit dan hemiyatti, 2018).

2.3 Bakteri Asam Laktat

Pada pergantian abad ke-20, bakteri asam laktat mulai dikenal dalam produk pembuatan susu. Namun, penelitian mengenai bakteri asam laktat semakin meningkat sehingga bakteri asam laktat semakin dikenal. Hal ini tentu saja mendorong beberapa peneliti seperti Orla dan Jensen pada tahun 1919 untuk melakukan penelitian guna membentuk dasar klasifikasi bakteri asam laktat. Kriteria yang digunakan oleh Orla dan Jensen untuk klasifikasi dasar bakteri asam laktat adalah morfologi seluler, mode fermentasi glukosa, suhu pertumbuhan yang berbeda dan pola pemanfaatan gula. Orla dan Jensen berhasil menemukan 4 genus utama bakteri asam laktat yaitu Lactobacillus, Leuconostoc, Pediococcus dan Streptococcus. Seiring berjalannya waktu, teknologi kian maju dan canggih sehingga melalui salah satu metode pengamatan biomolekuler, bakteri asam laktat memiliki penambahan genus seperti Enterococcus, Lactococcus, Bifidobacterium dan Carnobacterium (Wright dan Axelsson, 2012).

Pada umumnya bakteri asam laktat merupakan kelompok bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel bulat atau batang. Menurut Wright dan Axelsson (2012), bakteri asam laktat juga memiliki karakteristik tidak berendospora dan bersifat *aerotolerant* yaitu bakteri asam laktat dapat tumbuh dan bermetabolisme

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

dengan adanya kadar oksigen sementara bakteri asam laktat juga termasuk bakteri anaerob (soleimani *et al*., 2010). Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat berbeda dari bakteri-bakteri anaerob lainnya yaitu mendapatkan energi dari hasil metabolisme glukosa.

Genus Lactobacillus berdasarkan Angelis dan Gobbetti (2011), merupakan bakteri asam laktat yang memiliki bentuk selnya batang, gram positif, tidak bernedospora, non-motil dan berkatalase negatif. Bakteri ini terdapat di tanah, manusia, hewan, tanaman dan *dairy product*. Kemudian, bakteri genus ini dapat tumbuh optimum pada pH 5-5,3 dan suhu 30-37˚C. Pada media agar, bakteri ini memiliki koloni berbentuk bulat dan memiliki warna koloni putih hingga putih krem. Selain itu, beberapa spesies genus ini juga memiliki lingkaran halo dibagian tepi koloninya berwarna transparan. Bakteri genus ini antara lain *Lactobacillus plantarum, Lactobacillus bulgaricus* dan lainnya.

Genus Lactococcus pada bakteri asam laktat berdasarkan Carr *et al*. (2002), biasanya terdapat dalam pembuatan keju maupun *yoghurt.* Bakteri genus ini termasuk gram positif yang emiliki karakteristik non-motil, katalase negatif, tidak berendospora dan bentuk selnya kokus (bulat). Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu 10˚C hingga 40˚C, namun tidak tumbuh pada suhu 45˚C. Selain itu, bakteri genus ini dapat bertahan pada kadar NaCl 4% dan tidak dapat bertahan pada kadar 6% NaCl. Karakteristik morfologi genus ini memiliki bentuk koloni bulat, permukaannya koloninya yang halus, tepi koloninya rata dan koloni memiliki ragam warna mulai dari putih hingga kuning. Bakteri genus ini antara lain *Lactococcus lactis, L. Cremoris.* dan lainnya.

Genus Leuconostoc berdasarkan Carr *et al.* (2002), umumya terdapat di permukaan maupun didalam tanaman dan *dairy product.*. Bakteri genus ini memiliki karakteristik gram positif, bentuk selnya kokus, tidak berendospora, non-motil dan katalase negatif. Pada media agar, koloni bakteri ini berukuran kecil, berwarna keabu-abuan dan elevasinya *flat* (rata). Bakteri genus ini dapat hidup pada pH 4,5, tetapi tidak dapat tumbuh jika dibawah pH 4,5. Bakteri genus ini antara lain *Leuconostoc mesenteroides ssp*., *Leuconostoc dextranicum,* dan lainnya.

Genus Pediococcus berdasarkan Carr *et al*. (2002), umumnya terdapat didalam segala jenis fermentasi yang berhubungan dengan produk tanaman seperti acar, *wine*, pembuatan saus dan lainnya. Bakteri ini merupakan bakteri gram positif yang memiliki bentuk sel kokus, tidak berendospora, non-motil dan

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

berkatalase negatif. Bakteri ini juga dapat tumbuh pada pH 4-5,2 berbeda dengan genus Leuconostoc yang tidak dapat tumbuh pada pH 4. Selain itu, bakteri ini dapat tumbuh optimum pada suhu 35-37˚C dan tidak dapat tumbuh diatas 40˚C. Kemudian, pada media agar, bakteri ini memiliki ukuran kecil dengan bentuk koloni bulat dan memiliki berbagai macam warna mulai dari putih, putih keabu-abuan hingga kuning kehijauan. Selain itu, bakteri ini juga terdapat lingkaran halo berwarna transparan dibagian tepi koloninya. Bakteri genus ini antara lain *Pediococcus damnosus*, *P. Acidilactici* dan lainnya.

2.4 Jamur *Sclerotium rolfsii*

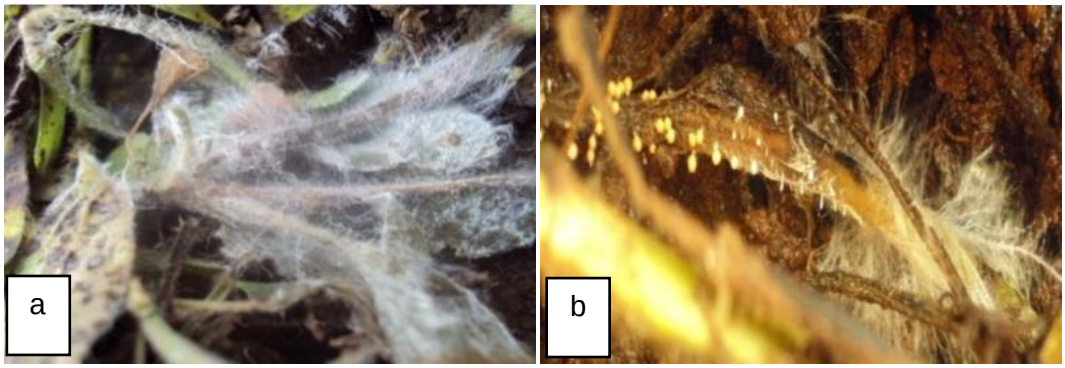
Menurut Ridge dan Shew (2014), klasifikasi cendawan *Sclerotium rolfsii* penyebab penyakit rebah kecambah pada tanaman kedelai adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi
Filum : Basidiomycota
Klas : Agaricomycetes
Ordo : Agaricales
Famili : Typhulaceae
Genus : Sclerotium
Spesies : *Sclerotium rolfsii*

Gejala penyakit *S. rolfsii* pada tanaman yang terserang penyakit akan menjadi layu dan menguning secara perlahan. Pada pangkal batang dan permukaan tanah di dekatnya terdapat miselium cendawan berwarna putih dan tumbuh sangat agresif pada jaringan tanaman yang diserang (Semangun, 2004). Pangkal batang pada tanaman yang terserang penyakit ini akan membusuk, sehingga penyakit ini sering juga disebut penyakit busuk pangkal batang. *S. rolfsii* dapat menyerang kecambah atau semai. Dalam keadaan yang sangat lembab cendawan juga dapat menyerang bagian daun (Gambar 3a), tangkai dan polong tanaman kedelai (Semangun, 2004).

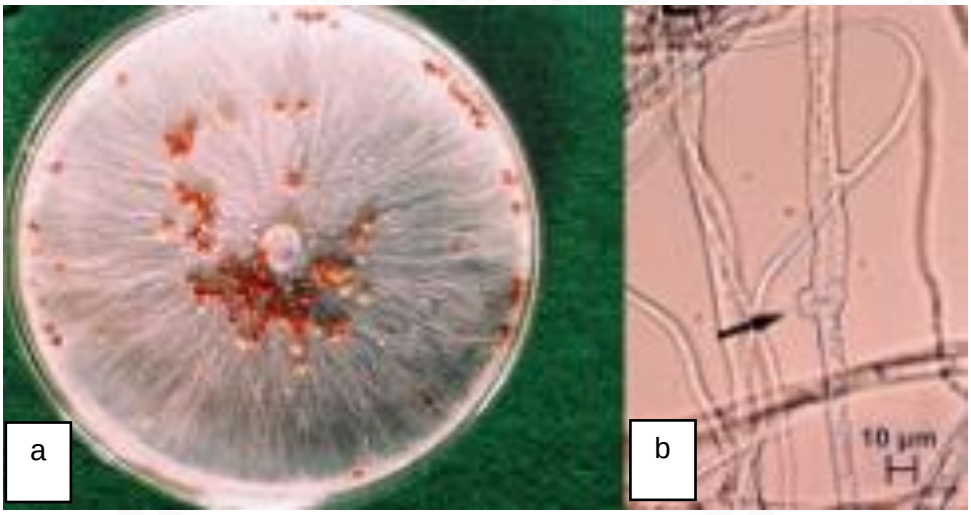
S. rolfsii mempunyai miselium yang terdiri dari benang-benang berwarna putih, tersusun seperti bulu atau kapas. Jamur ini tidak membentuk spora melainkan sklerotia. Untuk persebaran dan mempertahankan diri, jamur ini akan membentuk sklerotium. Menurut Dwivedi dan Prasaad (2016), sklerotia jamur ini pada tahap awal atau muda akan berbentuk bulat dan berwarna putih, namun akan berangsur-angsur berubah menjadi warna kecoklatan hingga coklat tua pada saat tahap matang (Gambar 3b).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 3. Gejala penyakit oleh jamur *S. rolfsii*. (a) Miselium pada daun dan (b) Sklerotium pada batang. (Sumber : Magenda, 2011)

Sklerotium mempunyai kulit yang kuat sehingga tahan terhadap suhu tinggi maupun kekeringan, bahkan dapat bertahan didalam tanah selama 6-7 tahun (Semangun, 2004). Kelembaban tinggi diperlukan untuk pertumbuhan sklerotia secara optimal. Kemudian, karakteristik jamur *S. rolfsii* secara mikroskopis adalah hifanya berwarna hialin, memiliki sekat, dan terdapat klam koneksi seperti pada gambar 4b (Kwon, 2010). Hal ini serupa dengan Barnett dan Hunter (1998), yaitu jamur *S. rolfsii* memiliki hifa bersekat dan klam koneksi.



Gambar 4. (a) Sklerotia pada media agar (b) Klam koneksi pada hifa (Sumber : Kwon, 2010)

Faktor yang mempengaruhi daya hidup *S. rolfsii* antara lain suhu, cahaya, kelembaban tanah, aerasi tanah, kandungan oksigen dan karbondioksida dan pH tanah. Suhu optimal yang dibutuhkan untuk pertumbuhan *S. rolfsii* adalah 25 - 35°C (Kartini dan Widodo, 2000). Semangun (2004), menambahkan bahwa penyakit dapat berkembang lebih cepat pada cuaca yang lembab, cendawan dapat menginfeksi baik melalui luka maupun tanpa melalui luka.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Pengendalian penyakit oleh jamur *S. rolfsii* ini biasanya dengan menggunakan fungisida (Semangun, 2004). Namun, Berdasarkan Dwivedi dan Prasaad (2016), jamur ini dapat dikendalikan dengan menggunakan agen antagonis seperti *Streptomyces sp., Pseudomonas sp.*dan menggunakan solarisasi yaitu dengan cara memodifikasi lingkungan tumbuh patogen sehingga suhu tanah meningkat (Kartini dan Widodo, 2000).

2.5 Pengendalian Hayati

Pengendalian hayati semakin berkembang setelah adanya pengendalian secara kimiawi-sintetis. Menurut Purnomo (2010), pengendalian hayati merupakan penggunaan organisme hidup untuk menekan kepadatan suatu populasi spesifik dengan cara memberikan pengaruh terhadap organisme spesifik agar kepadatan populasi maupun tingkat kerusakannya dapat menurun. Pengendalian hayati semakin berkembang karena jika dibandingkan dengan penggunaan bahan kimia untuk pengendalian, pengendalian hayati lebih baik. Pengendalian hayati tidak meninggalkan residu seperti penggunaan pestisida dan efek penggunaan pestisida sangat berbahaya bagi kesehatan manusia (Purnomo, 2010).

Kemudian, ada berbagai cara pengendalian hayati salah satunya dengan menggunakan Mikroba antagonis. Mikroba antagonis adalah jasad renik yang diperoleh dari alam baik berupa bakteri, cendawan, maupun virus yang dapat menekan, menghambat atau memusnahkan organisme pengganggu tanaman (Tombe, 2002). Menurut Hanudin dan Marwoto (2012), penggunaan agen antagonis sebagai pengendalian hayati memiliki keuntungan sebagai berikut :

- Tidak berdampak negatif terhadap lingkungan dan kesehatan manusia
- Aman bagi musuh alami OPT tertentu
- Mencegah terjadinya resurgensi (Ledakan serangan)
- Bebas residu senyawa kimia sintetis
- Efisien karena dapat mengurangi biaya produksi

Namun, dalam penggunaan agen antagonis juga memilik kelemahan yaitu proses penghambatan atau pengendaliannya cenderung lebih lambat dibandingkan dengan pestisida.

Menurut Purnomo (2010), agen antagonis memiliki mekanisme tersendiri dalam pengendalian terhadap patogen yaitu dengan cara antibiosis, kompetisi dan parasitisme. Hadiwiyono (2008), mengemukakan bahwa antibiosis merupakan kondisi suatu organisme mampu mengeluarkan senyawa metabolit

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

yang dapat memberikan pengaruh negatif terhadap organisme lainnya. Mikroba seringkali menghasilkan senyawa metabolit tertentu sebagai wujud pertahanan diri terhadap serangan mikroba lainnya. Senyawa metabolit yang dapat menghambat organisme laint tersebut disebut antibiotik. Menurut Prihatiningsih (2015), mekanisme antibiosis ditandai dengan adanya zona bening yang terlihat pada sekitar isolat yang menjadi agen antagonis pada medium agar.

Kemudian, mekanisme kedua yaitu kompetisi. Mekanisme ini dengan cara adanya kompetisi nutrisi dan ruang. Menurut Ainy *et al.* (2015), mekanisme kompetisi ditandai dengan adanya pertumbuhan salah satu mikroba yang lebih cepat dan bahkan koloninya menutupi koloni mikroba lainnya dalam suatu medium agar. Kompetisi hanya akan terjadi apabila dua mikroorganisme membutuhkan nutrisi dan ruang yang jumlahnya terbatas.

Selain itu, ada mekanisme parasitisme yang prosesnya bersamaan dengan mekanisme antibiosis dan kompetisi. Menurut Ainy *et al*. (2015), mekanisme parasitisme ini dibantu dengan adanya senyawa metabolit yang dikeluarkan untuk menghancurkan dinding sel dari mikroba patogen. Ketika senyawa metabolit tersebut dapat merusak dinding sel maupun jaringan mikroba patogen maka nutrisi akan bisa diserap lebih banyak oleh mikroba antagonis tersebut. Berdasarkan Khairul *et al.* (2018), dinding hifa patogen mampu ditembus oleh hifa agen antagonis dengan bantuan senyawa metabolit dan hifa patogen juga terlilit sehingga metabolismenya terganggu dan agen antagonis dapat menyerap nutrisi maupun ruang lebih banyak dan perlahan akan menghambat pertumbuhan koloni patogen.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

III. METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat

Kegiatan penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli 2018 hingga Oktober 2018. Adapun tempat pelaksanaan penelitian ini di Universitas Brawijaya yang terletak di Kota Malang khususnya Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian dan Laboratorium Sentral Ilmu Hayati (LSIH).

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini adalah *hotplate*, panci, spatula, pisau, gunting, cawan petri, gelas ukur, rak dan tabung reaksi, neraca analitik, labu erlenmeyer, inkubator, gelas ukur, botol media, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *autoclave*, *micropipet*, jarum ose, nampan plastik, bunsen, botol *spray*, *vortex,* mikroskop, *object glass*, *cover glass*, *micropipet, blue-tip, stick – L,*

Bahan yang digunakan dalam kegiatan penelitian ini adalah spirtus, *aluminium-foil*, kapas, tisu steril, *wrap plastic*, plastik petromax, akuades steril, alkohol 70% dan 96%, Media PDA (*Potato Dextrose Agar)*, media MRSA (*de Man Rogosa Sharpe agar)*, media MRS-*Broth,* $CaCO_3$ 1%, *chlorox,* batang tanaman kedelai yang terinfeksi *S. roflsii*, sawi hijau (*Brassica juncea)*, NaCl, air kelapa, H_2O_2 3%, larutan iodine, larutan KOH, safranin, *malachite green,* kristal violet dan larutan NaCl 0,85%.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Pengambilan sampel Bakteri

Dalam penelitian ini, sampel yang digunakan untuk mendapatkan bakteri asam laktat berasal dari air fermentasi sawi hijau. Proses pembuatan sampel dengan cara meremas sawi hijau dengan garam 3%, lalu direndam air kelapa selama empat sampai lima hari (Swain *et al.*, 2014). Jika air rendaman berubah menjadi keruh maka fermentasi berhasil dan air rendaman tersebut yang akan digunakan sebagai sampel.

3.3.2 Pembuatan Media

Media yang digunakan dalam penelitian ini ada empat jenis yaitu PDA (*Potato Dextrose Agar*), MRS-Agar, MRS-Agar $CaCO_3$ 1% dan MRS-*broth*. Hal ini dikarenakan media untuk pertumbuhan mikroba yang dibutuhkan berbeda seperti bakteri asam laktat dari fermentasi sawi hijau

menggunakan media MRS-Agar, MRS-Agar $CaCO_3$ 1% dan MRS-*broth* karena untuk lebih mendukung pertumbuhan bakteri asam laktat. Kemudian, untuk jamur patogen tanaman dan uji antagonis menggunakan media PDA.

Dalam pembuatan media, masing-masing bahan dilarutkan dalam 500 ml akuades dan dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu dituang dalam botol media dan di tutup dengan *aluminium foil*. Kemudian, di rekatkan dengan plastik *wrap* dan disterilisasi dalam *autoclave* pada suhu 121˚C selama 20 menit. Setelah itu, media dituang ke dalam cawan petri sebanyak 10-15 ml dalam kondisi steril pada LAFC hingga media memadat sedangkan untuk MRS-*broth*, media dituang kedalam tabung reaksi. Kemudian, pinggiran cawan petri direkatkan dengan plastik *wrap* dan permukaan tabung reaksi direkatkan dengan *aluminium-foil* dan plastik *wrap,* lalu diinkubasi pada suhu ruang.

3.3.3 Isolasi Bakteri

Pada tahap isolasi bakteri yang akan diuji menggunakan metode *spread-plate* atau metode sebar. Dalam pembuatan suspensi bakteri dari fermentasi sawi hijau, 1 ml sampel air rendaman sawi hijau dicampurkan kedalam 10 ml larutan NaCl 0,85% dan dihomogenkan menggunakan *vortex* (Laily *et al*., 2013). Setelah itu, dilakukan pengenceran hingga 10^{-5}. Kemudian, diambil suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml dan dituang ke dalam cawan petri yang telah berisi media padat MRS-Agar $CaCO_3$ 1% (Monika *et al*., 2017) dengan kondisi steril dalam LAFC. Setelah itu, diratakan dengan menggunakan *stick-L* hingga suspensi terlihat meresap kedalam media. Selanjutnya, cawan direkatkan dengan plastik *wrap* dan diinkubasi pada suhu 37˚C dengan posisi cawan terbalik.

3.3.4 Purifikasi Bakteri

Pada tahap ini dilakukan untuk mendapatkan koloni atau biakan murni dari bakteri yang akan diuji. Untuk tahap purifikasi, secara umum menggunakan metode *streak-plate* atau metode gores (Vantsawa *et al*., 2017). Media yang digunakan untuk purifikasi yaitu MRS-Agar. Purifikasi dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose isolat bakteri, lalu di goreskan pada media padat sesuai dengan metode kuadran. Purifikasi dilakukan hingga didapatkan koloni murni yang nantinya disimpan dalam lemari pendingin sebagai stok kultur dengan media agar miring.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

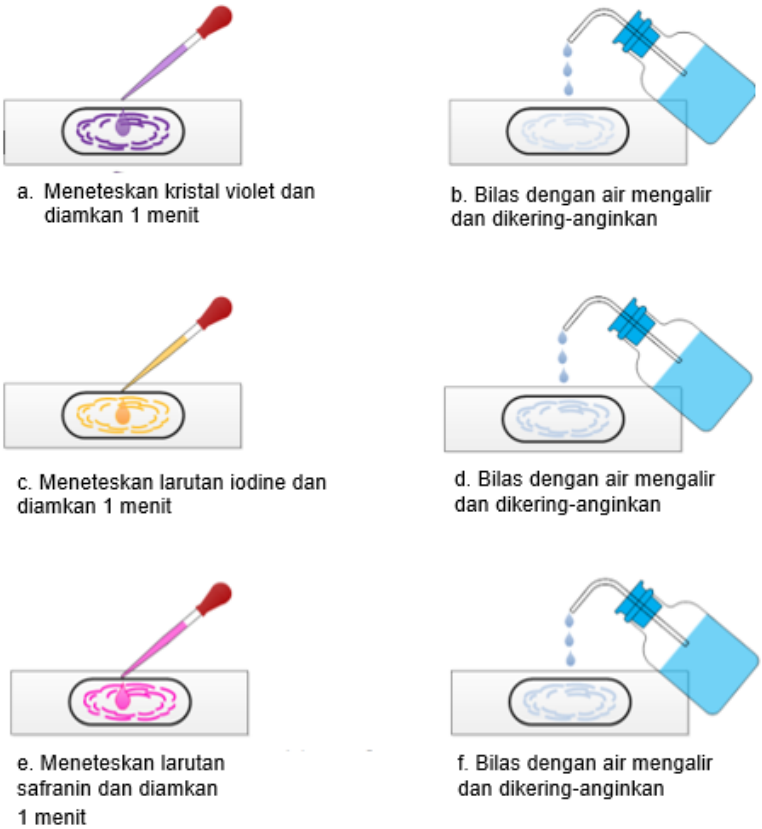
3.3.5 Identifikasi Bakteri

Pada tahap ini, identifikasi bakteri dilakukan berdasarkan buku acuan yaitu "*Bergey's Manual of Determinative Bacteriology"* oleh John G. Holt dan "Pedoman Diagnosis Optik Golongan Bakteri" oleh Badan Karantina Pertanian, untuk mengetahui karakteristik morfologi, fisiologi, dan biokimia bakteri.

a. Uji Gram

Pada pengujian ini terdapat dua metode yang digunakan untuk mengetahui struktur dinding sel dari bakteri yang akan diuji termasuk dalam bakteri gram positif atau bakteri gram negatif. Metode pertama yaitu pewarnaan gram dengan cara mengambil satu jarum ose koloni murni bakteri yang berumur maksimal dua hari dan diletakkan pada *object glass*, lalu dikering-anginkan. Setelah itu, difiksasi dengan cara melewatkan bagian bawah *object glass* ke api bunsen sebanyak dua kali. Kemudian, isolat diteteskan kristal violet sebanyak dua hingga tiga tetes dan didiamkan selama 1 menit. Lalu, dibilas dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Selanjutnya, isolat diteteskan larutan iodine sebanyak dua hingga tiga tetes dan didiamkan selama 1 menit. Lalu, dibilas dengan air mengalir dan dikering-anginkan. Setelah itu, isolat kembali diteteskan dengan larutan safranin sebanyak dua hingga tiga tetes dan didiamkan selama 1 menit. Selanjutnya, dibilas dengan air mengalir dan dikering - anginkan. Kemudian, dilakukan identifikasi isolat di mikroskop. Indikator identifikasi terdapat pada warna yang terlihat, jika berwarna ungu maka bakteri termasuk gram positif, sedangkan warna merah bakteri termasuk gram negatif.

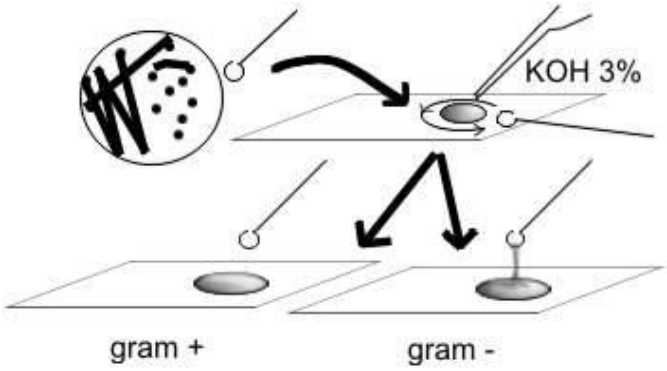
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 5. Skema Pewarnaan Gram
(Sumber : Google Image, 2018)

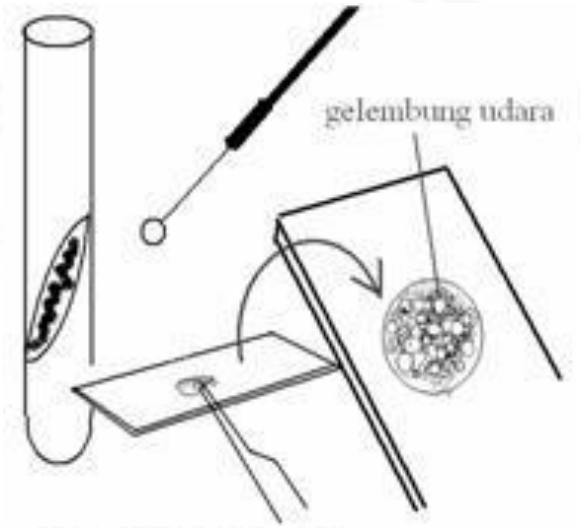
Metode kedua yaitu uji dengan KOH lebih mudah dan dapat menjadi alternatif. Metode ini dilakukan dengan cara mengambil satu jarum ose koloni bakteri yang berumur 1-2 hari dan diletakkan pada *object glass.* Lalu, ditetesi dengan larutan KOH sebanyak dua hingga tiga tetes dan diaduk menggunakan jarum ose. Setelah itu, jarum ose diangkat secara berulang dan diamati. Jika suspensi menjadi berlendir, lengket dan ikut terangkat bersama jarum ose menyerupai benang, maka bakteri termasuk gram negatif. Sebaliknya, jika suspensi tetap encer, tidak lengket dan tidak ada yang terangkat seperti benang bersama jarum ose maka bakteri termasuk gram positif.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 6. Skema Uji KOH 3%
(Sumber : Google Image, 2018)

b. Uji Katalase



Gambar 7. Skema Uji Katalase
(Sumber : Google Image, 2018)

Pada uji ini digunakan untuk mengetahui sifat biokimia pada bakteri yang diuji. Uji katalase dilakukan dengan cara mengambil satu ose isolat bakteri yang telah dimurnikan, kemudian dioleskan pada *object glass* yang sudah disterilkan dengan alkohol. Setelah itu, diteteskan dengan larutan H_2O_2 3% dan mengamati terbentuknya gelembung gas pada *object glass.* Jika terdapat gelembung gas, maka bakteri tersebut positif menghasilkan enzim katalase (Anggraini *et al*., 2016).

c. Pewarnaan spora

Berdasarkan Mukamto *et al*. (2015), Isolat bakteri asam laktat dioleskan pada kaca objek dan difiksasi di atas api bunsen. Kaca objek diletakkan di atas rak kawat dan diberi pewarna hijau melakit. Setelah itu

kaca objek dipanaskan selama 5 menit di atas penagas air. Panas akan mengembangkan lapisan luar spora sehingga hijau melakit dapat masuk ke dalam spora. Selanjutnya kaca objek didinginkan selama 1 menit lalu dibilas dengan menggunakan air mengalir. Kemudian, dilakukan pengamatan dengan menggunakan mikroskop. Pewarnaan ini dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri mampu membentuk spora atau tidak serta untuk melihat bentuk bakteri. Jika terlihat warna merah pada perbesaran mikroskop maka bakteri tidak mampu membentuk spora, sedangkan jika terlihat warna hijau melekit maka bakteri mampu membentuk spora.

d. Uji Pertumbuhan Bakteri Terhadap Suhu

Pada uji ini, bakteri asam laktat akan diuji pertumbuhannya pada beberapa suhu berbeda. Berdasarkan Thakkar (2015), bakteri asam laktat yang berumur 24 - 48 jam diambil sebanyak 1 jarum ose, kemudian dimurnikan kedalam tabung yang berisi media MRS-*broth.* Setelah itu, masing-masing tabung yang berisi bakteri asam laktat diinkubasi selama 2 hari pada 3 suhu berbeda yaitu 15˚C, 30˚C dan 45˚C serta melakukan pengamatan kekeruhan pada media.

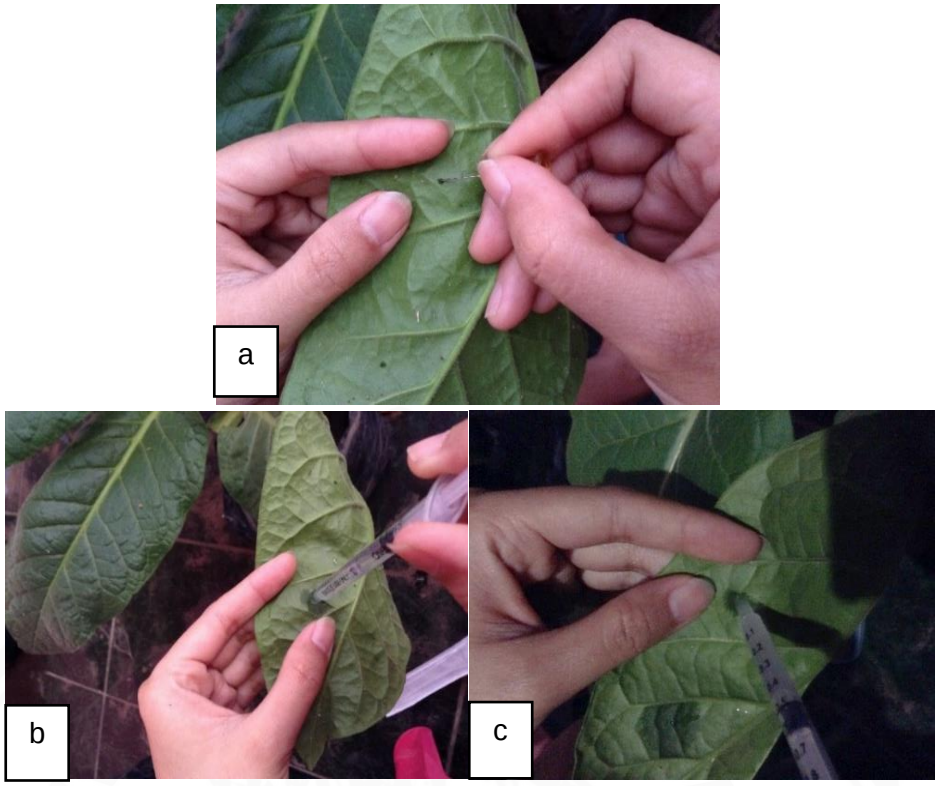
e. Uji Toleransi Bakteri Terhadap NaCl

Pada uji ini, bakteri asam laktat akan diuji pertumbuhannya dalam kemampuan toleransinya terhadap kadar garam (NaCl) yang diberikan. Berdasarkan Thakkarl (2015), tabung yang berisi media MRS-*broth* ditambahkan masing-masing 4% dan 6,5% NaCl kedalamnya. Kemudian, bakteri asam laktat berumur 24-48 jam sebanyak 1 jarum ose dimasukkan kedalam tabung yang telah berisi media dan NaCl. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37˚C dan pengamatan kekeruhan.

3.3.6 Uji Hipersensitif

Pada uji ini, bakteri asam laktat akan diinjeksikan langsung ke tanaman dengan cara disuntikkan ke bagian daun tanaman tembakau (Gambar 8) dan diamati selama 24 jam (BKP, 2018). Apabila dalam waktu 24 jam daun tanaman tembakau masih terlihat segar, maka bakteri yang diinjeksikan tidak bersifat patogen terhadap tanaman. Sebaliknya, jika bersifat patogen maka daun tembakau akan menunjukkan gejala nekrosis pada umumnya.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 8. Cara Kerja Uji Hipersensitif. (a) Membuat sedikit goresan menggunakan jarum, (b) Menginjeksi aquades sebagai kontrol, (c) Menginjeksi isolat bakteri.

3.3.7 Isolasi, Identifikasi dan Perbanyakan Patogen *Sclerotium rolfsii*

Isolat jamur *S. rolfsii* diperoleh dari hasil isolasi tanaman kedelai yang sakit. Berdasarkan Setiawan *et al*. (2014), tanaman kedelai yang diisolasi memiliki ciri-ciri pangkal batang yang terdapat benang-benang jamur berwarna putih dan sklerotia berwarna putih hingga kecoklatan (Magenda, 2011). Isolasi dilakukan dengan cara mengambil sklerotia atau setengah bagian tanaman yang sehat dan setengah bagian yang sakit dengan menggunakan *cutter* steril (sekitar 1cm x 1cm). Kemudian, merendam bagian tanaman tersebut ke dalam *chlorox* (desinfeksi) selama 1 menit dan dibilas ke dalam akuades steril sebanyak 2 kali (Sukamto dan Wahyuno, 2013). Setelah itu, ditiriskan di *tissue* kering dan ditanam pada cawan petri yang telah berisi media PDA serta diinkubasi selama 7 hari dalam suhu ruang (Faidah, 2017; Shofiana *et al.,* 2015; Pratiwi *et al.,* 2013; Kurniasih *et al.,* 2014)

Purifikasi jamur, menurut Tanzil *et al*. (2015), dilakukan dengan cara mengambil koloni jamur dengan jarum ose, lalu ditanamkan kembali pada media PDA yang baru dan diinkubasi dalam suhu ruang. Setelah itu, jamur

dilakukan identifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Identifikasi jamur mengacu pada buku *"Illustrated Genera of Imperfect Fungi : Fourth edition (1998)"* oleh Barnett, H. L. dan B. B. Hunter. Identifikasi makroskopis berupa pengamatan morfologi seperti warna, bentuk dan pola persebaran jamur (Sastrahidayat *et al.,* 2011; Setiawan *et al.,* 2014; Muhibuddin, 2010; Tanzil *et al.,* 2015). Sedangkan, identifikasi mikroskopis berupa pengamatan dalam perbesaran mikroskop seperti ada atau tidaknya septa pada hifa, percabangan hifa dan warna hifa (Wulandari *et al.,* 2014; Istiqomah *et al.,* 2014; Muhibuddin, 2018). Pembuatan preparat untuk identifikasi mikroskopis berdasarkan Wulandari *et al*. (2014), yaitu dengan cara mengambil sedikit media PDA dan diletakkan di *object glass,* setelah itu dipanaskan pada api bunsen beberapa detik. Kemudian, sebanyaj 1 jarum ose hifa jamur ditanamkan diatas media pada *object glass* dan ditutup dengan *cover glass.* Pada sisi tepi *cover glass* ditekan agar jamur dan media menyatu serta untuk menghindari adanya kontaminan yang masuk kedalam preparat. Setelah itu, preparat diinkubasi selama 2-3 hari dalam wadah plastik yang telah dialasi oleh *tissue* lembab dan tertutup rapat.

3.3.8 Uji Antagonis Secara *In Vitro*

Uji antagonis secara *in vitro* menggunakan metode oposisi langsung yang dilakukan dalam cawan petri berdiameter 9 cm berisi media PDA. Koloni bakteri asam laktat dan jamur *Sclerotium rolfsii* ditanam berhadapan pada media dalam cawan petri, masing-masing berjarak 3 cm dari tepi cawan dan dilakukan pada waktu yang sama. Selain itu, dilakukan penanaman isolat patogen pada cawan petri terpisah dengan koloni bakteri yang telah direndam akuades sebagai kontrol. Biakan selanjutnya diinkubasi dalam suhu ruangan. Pengamatan dilakukan setiap hari dari saat inokulum ditanam dengan mengukur pertumbuhan koloni untuk mengetahui persentase daya hambat bakteri antagonis. Persentase hambatan dihitung berdasarkan rumus yang diadaptasi dari rumus yang dikemukakan oleh Purnomo *et al*. (2017), yaitu:

$$R = [(Rc - Ri) / Rc] \times 100 \%.$$

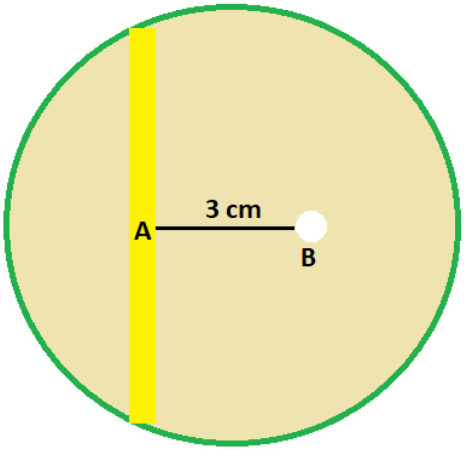
Keterangan :

R = Persentase daya hambat (%)

Rc = Jari-jari koloni jamur pada kontrol (cm)

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Ri = Jari-jari koloni jamur menuju pusat antagonis (cm)



Gambar 9. Metode oposisi pada uji antagonis. (a) Isolat Bakteri dan (b) Isolat jamur *S. rolfsii*

Pada uji antagonis menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 6 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yakni :

K0 : Kontrol (akuades)

B1 : Isolat bakteri B1

B2 : Isolat bakteri B2

B3 : Isolat bakteri B3

B4 : Isolat bakteri B4

B5 : Isolat bakteri B5

3.4 Analisa Data

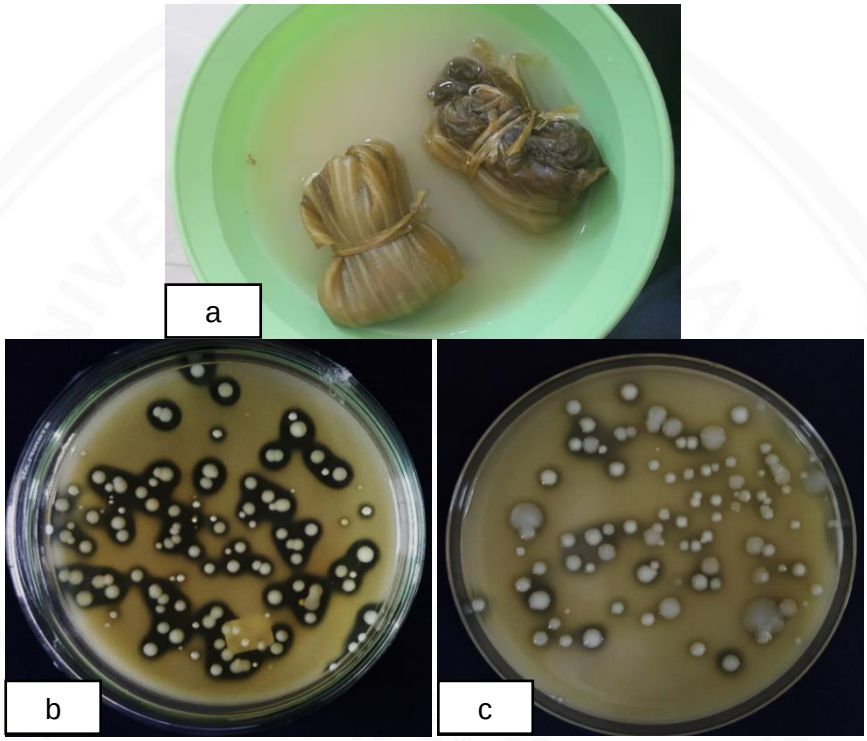
Data yang diperoleh dari hasil penelitian dianalisis secara statistik menggunakan *Analisis Of Varience* (ANOVA) dengan taraf kesalahan 5%, Jika hasil analisis ragam berpengaruh nyata, maka akan dilakukan uji lanjut dengan *Duncan`s Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf kesalahan 5%.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Isolasi Bakteri Asam Laktat

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, didapatkan bakteri asam laktat (BAL) yang memiliki karakteristik berbeda. Hal ini sesuai dengan Emmawati *et al*. (2015), bahwa bakteri asam laktat akan tumbuh dalam waktu minimal empat hingga dua belas hari. Populasi bakteri asam laktat pada umumnya meningkat di hari kelima fermentasi yang ditandai dengan perubahan warna air menjadi semakin keruh (Gambar 10a) dan munculnya bau asam dari produk yang difermentasi karena adanya penurunan pH.



Gambar 10. (a) Sampel sayur sawi asin saat fermentasi hari ke-5, (b) Koloni bakteri hasil isolasi pada pengenceran 10^{-4} (c) Koloni bakteri hasil isolasi pada pengenceran 10^{-5}.

Pada hasil isolasi bakteri asam laktat (Gambar 10b, 10c) terlihat perbedaan antar bakteri yang tumbuh. Namun, untuk mengetahui bakteri yang diisolasi tersebut termasuk bakteri asam laktat adalah dengan terbentuknya zona bening disekitar bakteri. Hal ini disebabkan adanya suatu reaksi antara bakteri asam laktat dengan bahan kimia kalsium karbonat dalam campuran media. Menurut Dewi dan Anggraini (2012), isolasi bakteri asam laktat pada media MRS-Agar yang dimodifikasi dengan $CaCO_3$ (kalsium karbonat) 1% akan membentuk zona bening disekitar koloni bakteri setelah diinkubasi 1-2 hari.

Selain itu, asam yang dihasilkan oleh bakteri akan bereaksi dengan adanya $CaCO_3$ sehingga dari proses reaksi tersebut menghasilkan Ca- laktat yang larut dalam media dan terlihat adanya zona bening disekitar koloni bakteri.

4.2 Identifikasi Bakteri Asam Laktat dari Hasil Isolasi

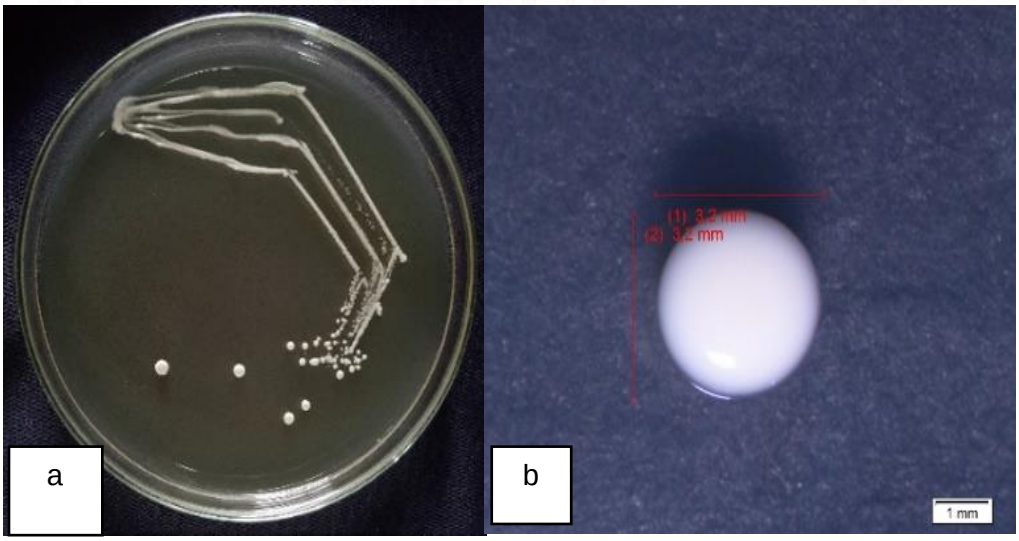
4.2.1 Karakteristik Morfologi

Pada tahap ini, dilakukan dengan cara mengamati koloni tunggal yang didapatkan dari hasil purifikasi bakteri melalui metode *streak-plate* pada medium agar yang telah diinkubasi selama 48 jam. Indikator pengamatan karakteristik morfologi yaitu bentuk, warna, tepian dan elevasi koloni bakteri dengan bantuan mikroskop. Adapun hasil karakteristik morfologi bakteri asam laktat yang telah diidentifikasi adalah sebagai berikut:

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Bakteri Asam laktat Asal Fermentasi Sawi Hijau

Kode Isolat	Bentuk Koloni	Warna	Tepi	Elevasi
B1	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung
B2	Bulat	Putih Mengkilap	Rata	Cembung
B3	Bulat	Putih Krem	Rata	Cembung
B4	Bulat	Putih Susu	Rata	Cembung
B5	Bulat	Putih Kekuningan	Rata	Cembung

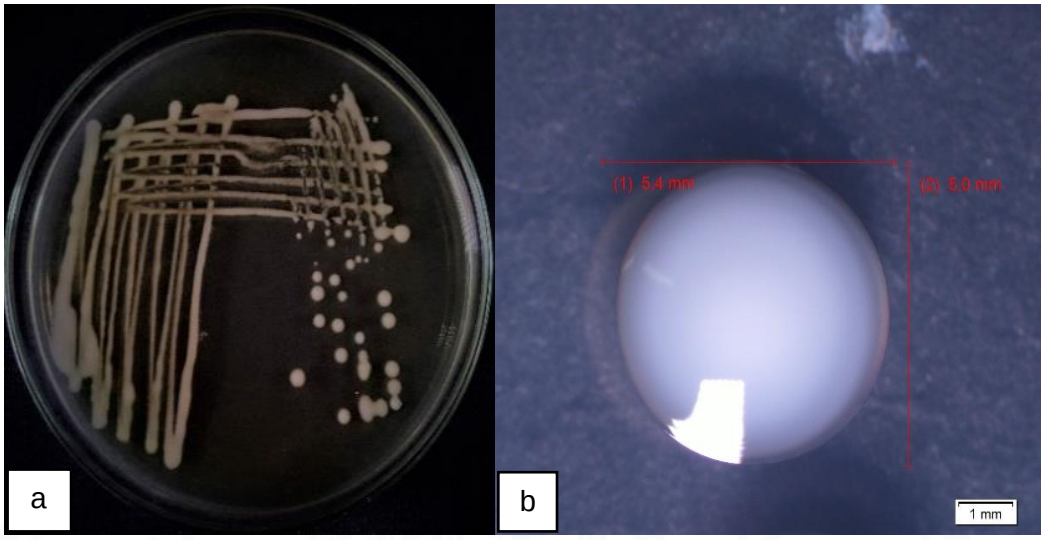
Isolat B1. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopik menunjukkan bahwa bakteri isolat B1 (Gambar 11) memiliki bentuk koloni bulat (*sirkuler*) dan berwarna putih susu. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis koloni bakteri isolat B1 memiliki pinggiran atau tepi yang rata (*entire*) dan elevasinya cembung (*convex*).



Gambar 11. (a) Koloni bakteri isolat B1 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 32x.

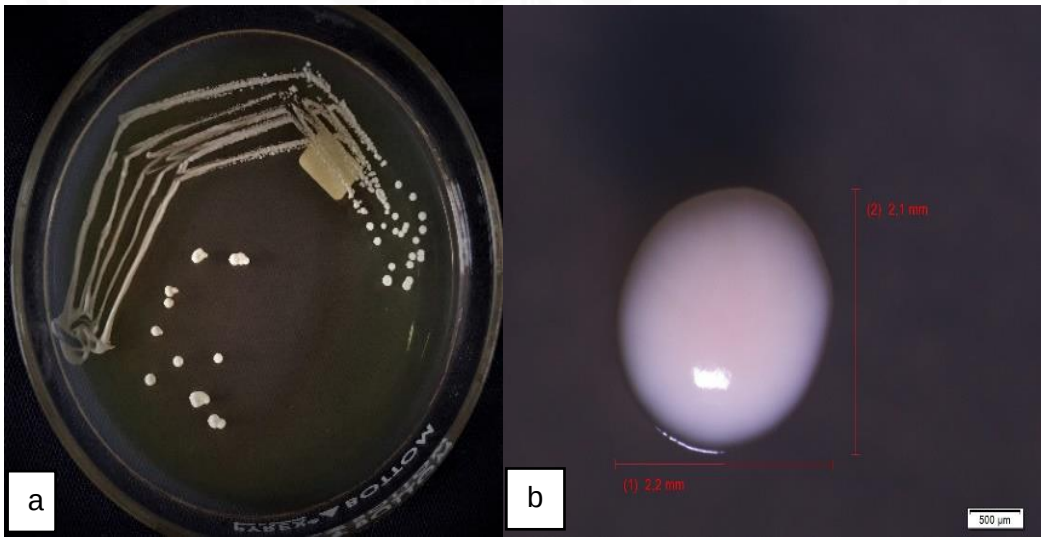
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Isolat B2. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopik menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki bentuk koloni bulat (*sirkuler*) dan berwarna putih mengkilap. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis koloni bakteri isolat B2 memiliki pinggiran atau tepi yang rata (*entire*) dan elevasinya cembung (*convex*).



Gambar 12. (a) Koloni bakteri isolat B2 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 50x.

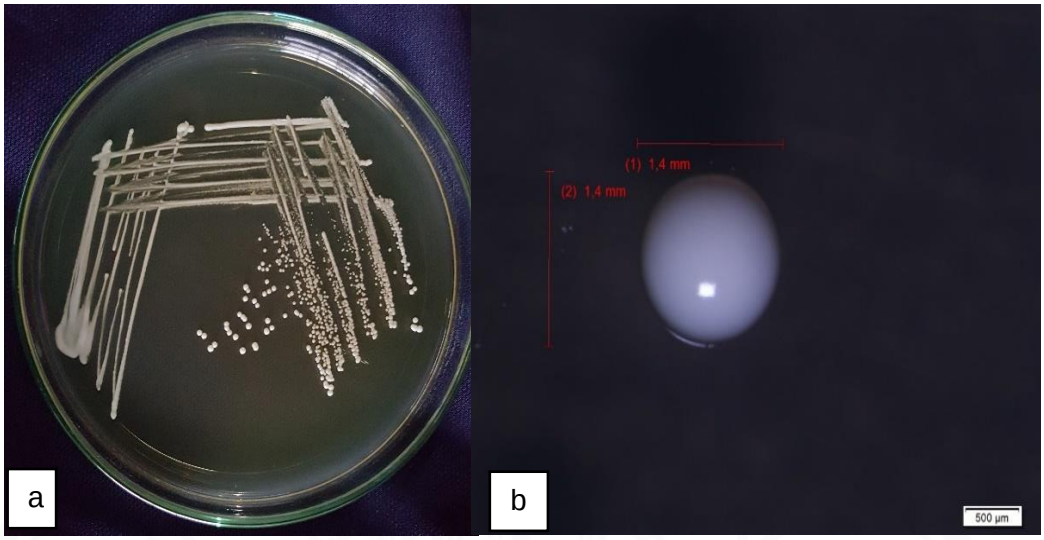
Isolat B3. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopik menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki bentuk koloni bulat dan berwarna putih krem. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis koloni bakteri isolat B3 memiliki pinggiran atau tepi yang rata (*entire*) dan elevasinya cembung (*convex).*



Gambar 13. (a) Koloni bakteri isolat B3 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 40x.

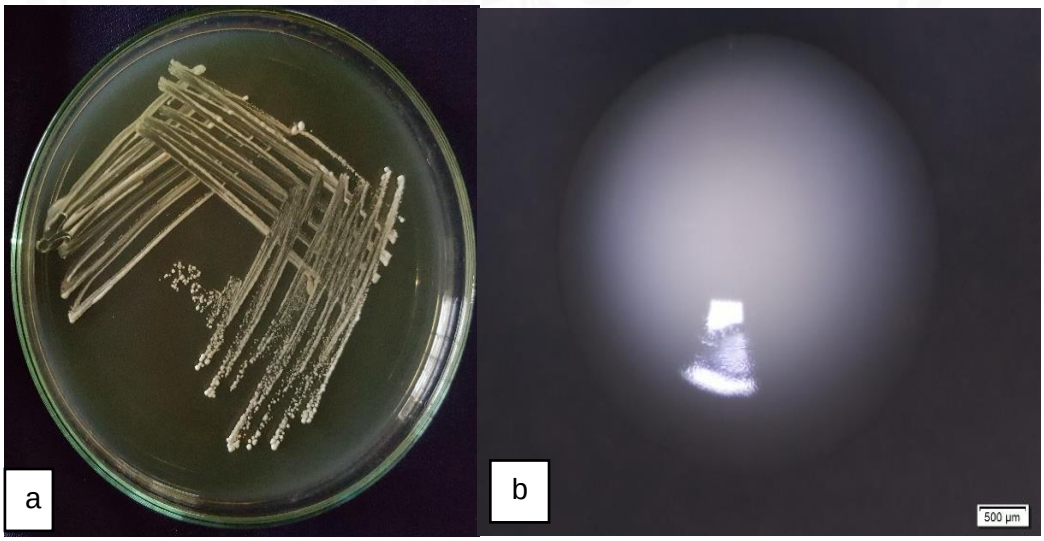
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Isolat B4. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopik menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki bentuk koloni bulat (*sirkuler*) dan berwarna putih krem. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis koloni bakteri isolat B4 memiliki pinggiran atau tepi yang rata (*entire*) dan elevasinya cembung (*convex).*



Gambar 14. (a) Koloni bakteri isolat B4 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 25x.

Isolat B5. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopik menunjukkan bahwa isolat bakteri memiliki bentuk koloni bulat (*sirkuler*) dan berwarna putih krem. Sedangkan, pengamatan secara mikroskopis koloni bakteri isolat B5 memiliki pinggiran atau tepi yang rata (*entire*) dan elevasinya cembung (*convex).*



Gambar 15. (a) Koloni bakteri isolat B5 hasil *Streak-plate* pada media MRS-Agar, dan (b) Koloni tunggal pada perbesaran 56x.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

4.2.2 Karakteristik Fisiologi dan Biokimia

Pada tahap ini identifikasi melalui beberapa uji yang mengacu pada buku *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology* oleh Holt *et al*., 1996 dan modifikasi beberapa uji tambahan oleh Thakkar (2015). Uji pertama yang dilakukan adalah uji KOH 3% untuk mengetahui jenis gram dari bakteri asam laktat. Berdasarkan Tabel 2, hasil koloni bakteri di preparat tidak berlendir atau lengket, yang ditandai dengan tidak adanya koloni bakteri yang terangkat oleh jarum ose seperti pada gambar 16a. Hal tersebut menandakan bahwa bakteri termasuk bakteri gram positif.

Tabel 2. Uji Larutan KOH 3% Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Pengamatan	Kode Isolat				
	B1	B2	B3	B4	B5
KOH 3%	Tidak Berlendir / Lengket	Tidak Berlendir / Lengket	Tidak Berlendir / Lengket	Tidak Berlendir / Lengket	Tidak Berlendir / Lengket

Hal ini sesuai menurut Anggraini *et al*. (2016), bahwa bakteri gram positif ditandai dengan tidak terbentuknya lendir dan bakteri gram negatif ditandai dengan terbentuknya lendir saat dicampurkan KOH 3%. Namun, uji KOH memiliki kelemahan yaitu rentannya kontaminasi sehingga hasil yang didapatkan tidak akurat. Hal ini dapat dilanjutkan dengan cara melakukan pewarnaan gram yang lebih akurat karena selain untuk mengetahui jenis gram bakteri, uji ini juga berfungsi untuk mengamati bentuk sel bakteri tersebut. Dengan begitu, pada perbesaran mikroskop akan terlihat lebih jelas dan akurat.

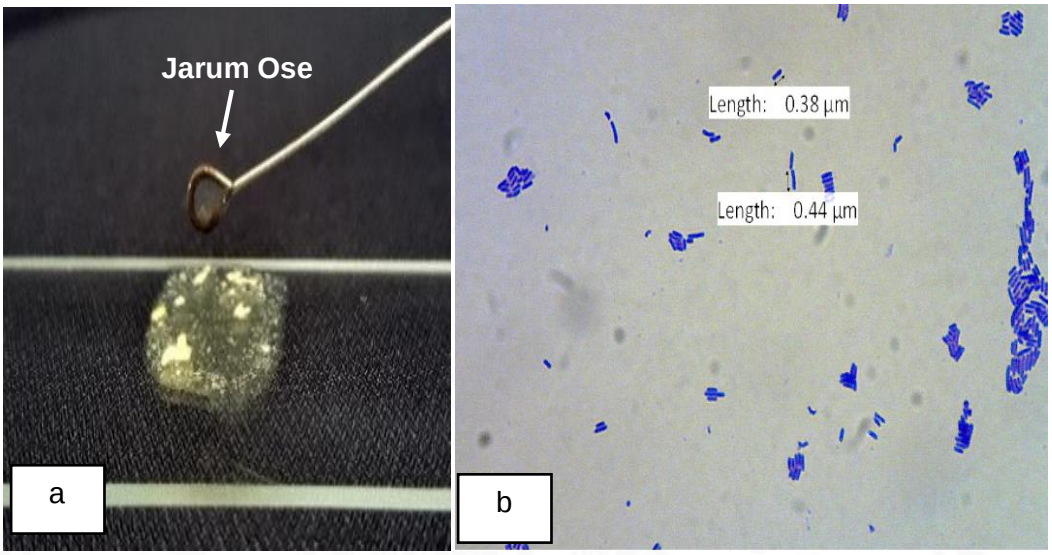
Tabel 3. Pewarnaan Gram Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Pengamatan	Kode Isolat				
	B1	B2	B3	B4	B5
Pewarnaan Gram	Berwarna ungu	Berwarna ungu	Berwarna ungu	Berwarna ungu	Berwarna ungu
Jenis Gram	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)	Positif (+)
Bentuk Sel	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang

Berdasarkan Tabel 3, hasil pewarnaan gram menunjukkan koloni bakteri berwarna ungu atau violet. Menurut Sardiani *et al*. (2015), dalam pewarnaan gram jika yang terlihat warna ungu maka bakteri termasuk gram positif. Hal ini dikarenakan bakteri gram positif dapat menahan kompleks pewarna primer yaitu kristal violet. Sedangkan, bakteri gram negatif akan berwarna merah. Hal ini

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

secara langsung membuktikan bahwa bakteri termasuk kedalam bakteri gram positif. Selain itu, pada pewarnaan gram juga memperlihatkan bentuk sel bakteri yaitu berbentuk basil atau batang pada semua isolat bakteri seperti yang ditunjukkan pada gambar 16b.



Gambar 16. (a) Hasil uji KOH 3% bakteri isolat B4 (tidak lengket / berlendir), (b) Hasil pewarnaan gram dan bentuk sel bakteri isolat B4 pada perbesaran 1000x.

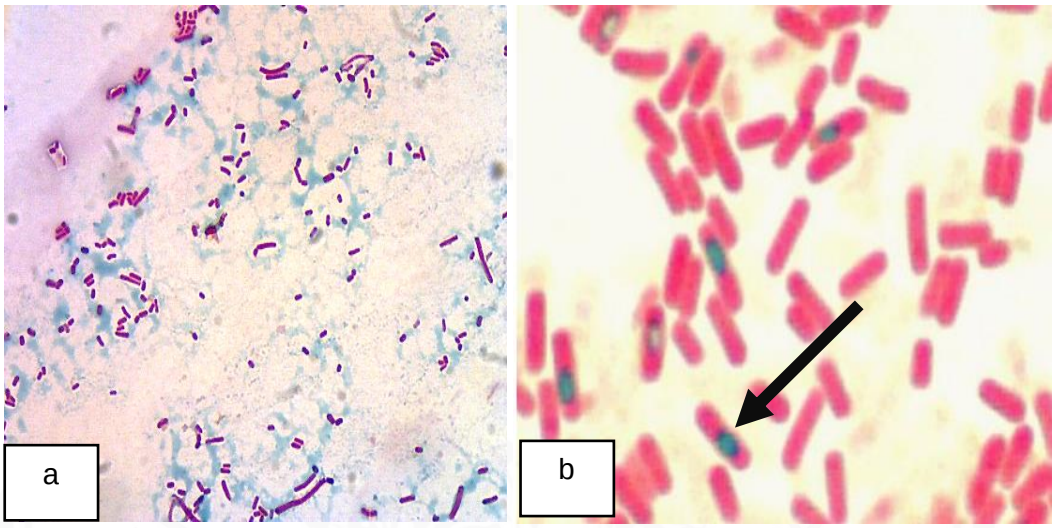
Kemudian, isolat bakteri dilakukan identifikasi lebih lanjut melalui pewarnaan spora, katalase dan dengan modifikasi uji pertumbuhan pada suhu tertentu serta uji toleransi terhadap kadar garam (NaCl) sebagai uji fisiologi BAL. Tahap ini mengacu pada diagaram alur dalam buku *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology* oleh Holt *et al*., 1996 seperti yang tertera pada lampiran 9. Hal ini dikarenakan diagram tersebut digunakan sebagai pedoman untuk identifikasi lebih lanjut setelah mendapatkan isolat gram positif berbentuk basil (batang). Adapun hasil pewarnaan spora bakteri asam laktat pada tabel 4 tersaji pada tabel dibawah ini :

Tabel 4. Pewarnaan Endospora Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Pengamatan	Kode Isolat				
	B1	B2	B3	B4	B5
Pewarnaan Endospora	Berwarna merah	Berwarna merah	Berwarna merah	Berwarna merah	Berwarna merah
Kategori	Non-spora	Non-spora	Non-spora	Non-spora	Non-spora

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Berdasarkan hasil pewarnaan endospora, pada semua isolat BAL tidak membentuk spora sehingga isolat bakteri termasuk dalam bakteri non-spora. Hal ini dapat dilihat pada gambar 17a, hanya sel vegetatif berwarna merah yang terlihat dalam perbesaran mikroskop. Menurut Amaliah *et al*. (2018), endospora akan memiliki warna hijau sedangkan sel vegetatif memiliki warna merah.



Gambar 17. (a) Hasil Uji Pewarnaan spora bakteri isolat B3 pada perbesaran 1000x dan (b) Bakteri berendospora pada perbesaran 1000x (ASM, 2016)

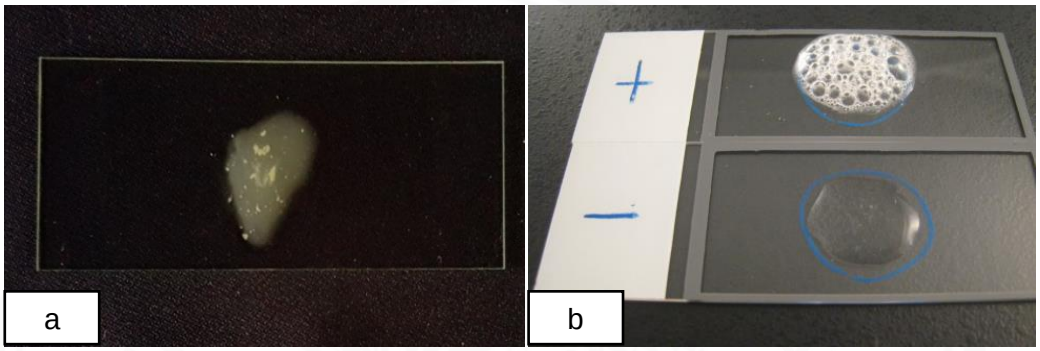
Berdasarkan pedoman *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology*, kelima isolat bakteri yang telah ditemukan dari penelitian tidak membentuk spora sehingga termasuk kedalam beberapa strain bakteri seperti *Corynedobacterium* spp., *Lactobacillus* spp., dan *Mycobacterium* spp. Untuk memastikan lebih lanjut maka dilakukan uji katalase diikuti dengan beberapa uji tambahan seperti uji pertumbuhan pada suhu tertentu dan uji toleransi dalam kadar garam (NaCl). Adapun hasil dari uji katalase sebagaimana tersaji dalam tabel 5.

Tabel 5. Uji Katalase Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Kode Isolat	Reaksi
B1	Tidak menghasilkan gelembung (-)
B2	Tidak menghasilkan gelembung (-)
B3	Tidak menghasilkan gelembung (-)
B4	Tidak menghasilkan gelembung (-)
B5	Tidak menghasilkan gelembung (-)

Berdasarkan tabel 5, uji katalase dari kelima isolat tidak menghasilkan adanya gelembung-gelembung pada preparat sehingga reaksinya negatif

(Gambar 18a). Hal ini membuktikan bahwa bakteri tidak menghasilkan enzim katalase yang mampu menguraikan hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi H_2O dan O_2. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Bansal *et al*. (2013), secara umum bakteri asam laktat merupakan bakteri yang tidak dapat menguraikan hidrogen peroksida. Hal ini serupa dengan Liu *et al*. (2014), yang mengemukakan bahwa bakteri asam laktat merupakan bakteri yang berkatalase negatif. Selain itu, berdasarkan diagram alur pedoman *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology,* kelima isolat bakteri yang memiliki karakteristik katalase negatif termasuk kedalam genus *Lactobacillus* spp.



Gambar 18. (a) Hasil Uji Katalase bakteri isolat B2 (reaksi negatif), (b) Literatur Hasil uji katalase reaksi positif dan negatif (ASM, 2016)

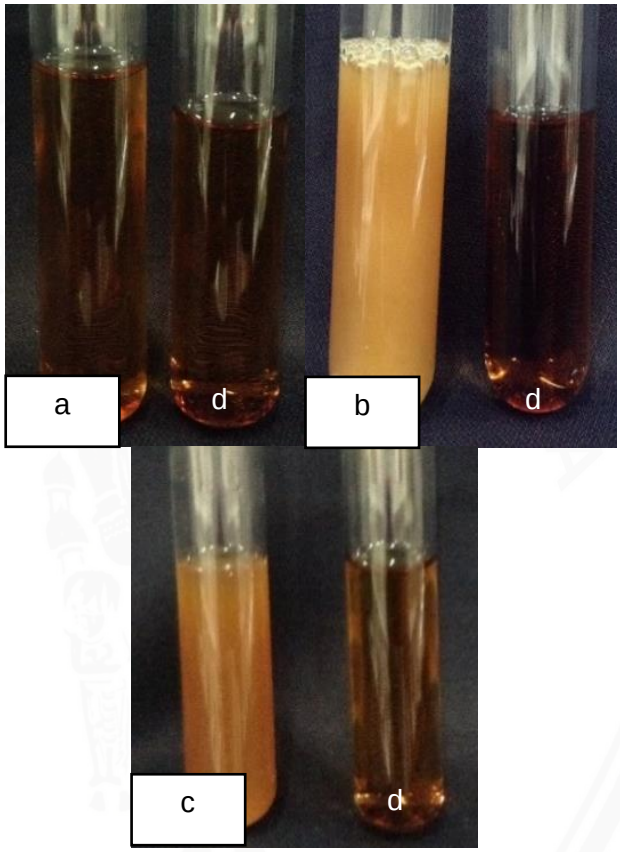
Uji selanjutnya adalah pertumbuhan bakteri pada tiga suhu yang berbeda yaitu 15˚C, 30˚C dan 45˚C. Berdasarkan hasil uji pada tabel 6, suhu terendah yaitu 15˚C, Isolat B2 dan B5 menunjukkan tidak ada perubahan warna di media MRS-Broth (Gambar 19a), sehingga tidak ada pertumbuhan bakteri didalamnya. Hal ini berbeda pada suhu 30˚C dan 45˚C, warna dari media menjadi keruh dan isolat bakteri B3 sangat keruh.

Tabel 6. Uji Tiga Suhu Pertumbuhan Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Kode Isolat	Suhu Pertumbuhan		
	15˚C	30˚C	45˚C
B1	Keruh	Keruh	Keruh
B2	Bening / Tidak Keruh	Keruh	Keruh
B3	Keruh	Keruh	Keruh
B4	Keruh	Keruh	Keruh
B5	Bening / Tidak Keruh	Keruh	Keruh

Berdasarkan hasil penelitian, pertumbuhan bakteri pada kedua suhu tersebut sangat baik karena menurut Lahtinen *et al*. (2012), suhu tersebut

termasuk suhu yang baik bagi pertumbuhan bakteri asam laktat dengan suhu minimal 10˚C dan maksimal 45˚C. Hal ini serupa dengan Thakkar *et al*. (2015), meskipun suhu pertumbuhan bakteri asam laktat minimal 15˚C, namun dari hasil penelitian yang telah dilakukan hanya ada sebagian bakteri asam laktat yang tumbuh pada suhu tersebut dengan kategori pertumbuhan yang lemah. Sedangkan, pada suhu 30˚C, 37˚C dan 45˚C bakteri asam laktat dapat bertumbuh dengan optimal. Menurut laily (2013), bakteri asam laktat yang mampu hidup hingga 45˚C adalah dari genus *Lactobacillus.*



Gambar 19. Hasil pertumbuhan isolat bakteri pada media MRS-*Broth* dengan suhu berbeda. (a) Isolat B2 suhu 15˚C, (b) Isolat B3 suhu 30˚C, (c) Isolat B1 suhu 45˚C dan (d) kontrol.

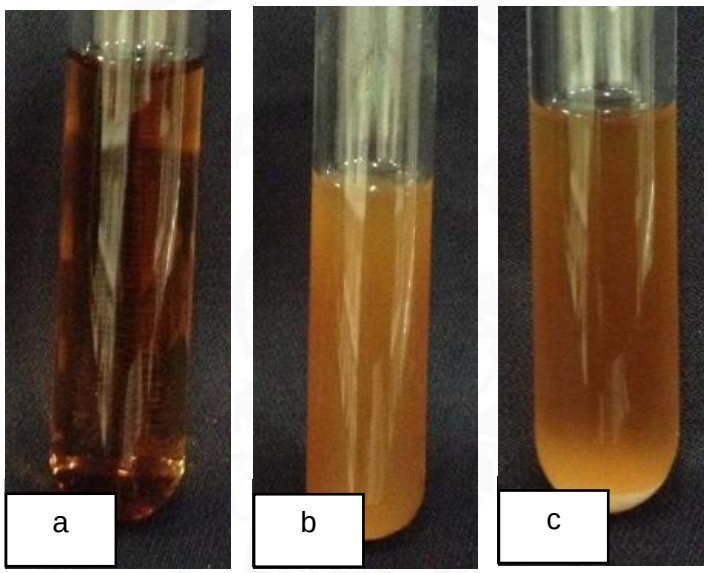
Tahap selanjutnya adalah menguji toleransi semua isolat bakteri terhadap kadar garam (NaCl). Uji ini dibagi menjadi 2 yaitu pada kadar garam 4% dan 6,5% (Thakkar, 2015). Berdasarkan tabel 7, semua isolat bakteri dapat tumbuh pada semua kadar garam yang diberikan dan terlihat pada media berubah warna menjadi keruh (Gambar 20).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Tabel 7. Uji Toleransi NaCl Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

Kadar NaCl	Kadar Isolat				
	B1	B2	B3	B4	B5
4 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh
6,5 %	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh	Keruh

Hal ini membuktikan bahwa semua isolat bakteri yang telah diuji toleransi terhadap kadar garam 4% dan 6,5%. Menurut Thakkar (2015), bakteri yang dapat toleransi hingga kadar garam 6,5% adalah dari genus *Lactobacillus.*



Gambar 20. Hasil pertumbuhan isolat bakteri pada media MRS-*Broth* dengan kadar NaCl yang berbeda. (a) kontrol, (b) Isolat B2 NaCl 4%, (c) Isolat B2 NaCl 6,5 %

4.3 Karakterisasi Bakteri Asam Laktat

Berdasarkan hasil karakteristik morfologi, fisiologi dan biokimia pada tabel 8, semua isolat bakteri yang ditemukan termasuk kedalam genus *Lactobacillus* spp. Hal ini sesuai dengan pedoman *Bergey`s Manual of Determinative Bacteriology* oleh Holt 1996 bahwa bakteri asam laktat yang memiliki bentuk sel batang dan memiliki warna dari putih hingga agak krem serta tidak membentuk spora dan katalase negatif adalah dari genus *Lactobacillus.* Selain itu, menurut Axelsson (2004), dalam *Lactic acid Bacteria: Classification and physiology,* mengemukakan bahwa bakteri asam laktat yang mampu hidup dari suhu 10˚C hingga 45˚C dan dapat bertahan atau toleransi terhadap konsentrasi NaCl 6,5%

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

serta berbentuk batang (basil) secara umum merupakan beberapa bakteri dari genus Lactobacillus.

Tabel 8. Karakterisasi Lima Isolat Bakteri Asam Laktat Hasil Isolasi

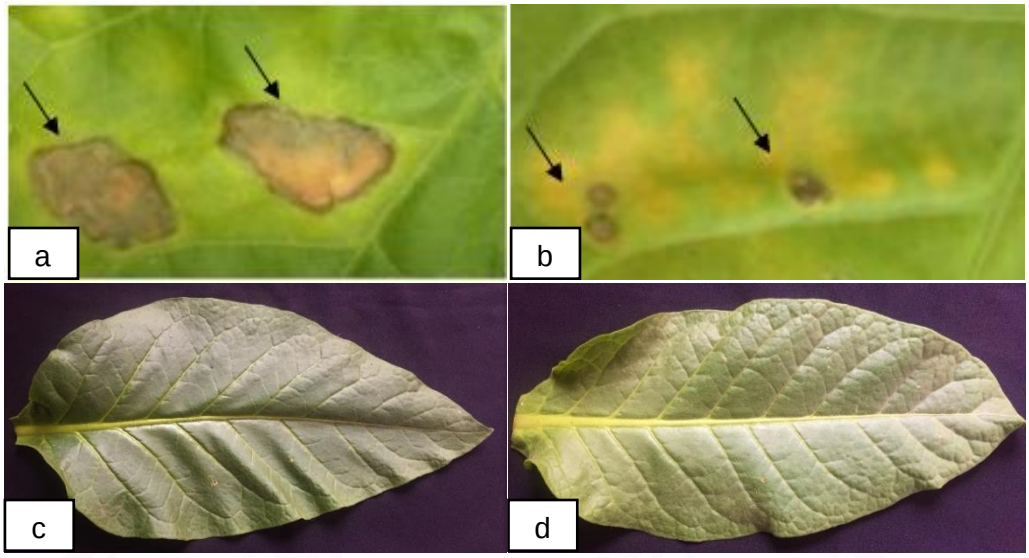
Pengamatan	Kode Isolat				
	B1	B2	B3	B4	B5
Bentuk Koloni	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat	Bulat
Warna koloni	Putih Susu	Putih Mengkilap	Putih Krem	Putih Susu	Putih Kekuningan
Tepi Koloni	Rata	Rata	Rata	Rata	Rata
Elevasi koloni	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung	Cembung
Bentuk Sel	Basil	Basil	Basil	Basil	Basil
Uji KOH 3%	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif
Pewarnaan Gram	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif	Gram Positif
Pewarnaan Endospora	Non-endospora	Non-endospora	Non-endospora	Non-endospora	Non-endospora
Uji Katalase	Non-katalase	Non-katalase	Non-katalase	Non-katalase	Non-katalase
Uji Suhu					
15˚C	+	-	+	+	-
30˚C	+	+	+	+	+
45˚C	+	+	+	+	+
Uji Toleransi NaCl					
4 %	+	+	+	+	+
6,5 %	+	+	+	+	+
Genus	*Lactobacillus* sp.				

Keterangan : (+) adalah tumbuh dan (-) adalah tidak tumbuh

4.4 Uji Hipersensitif

Uji hipersensitif merupakan uji yang penting sebelum tahap melakukan uji antagonis terhadap penyakit atau patogen pada tanaman. Hal ini dikarenakan untuk menghindari terjadinya ketidakakuratan terhadap hasil uji antagonis yang

memungkinkan bakteri tersebut bersifat patogen terhadap tanaman. Adapun hasil uji hipersensitif pada penelitian ini dapat dilihat pada gambar 21.



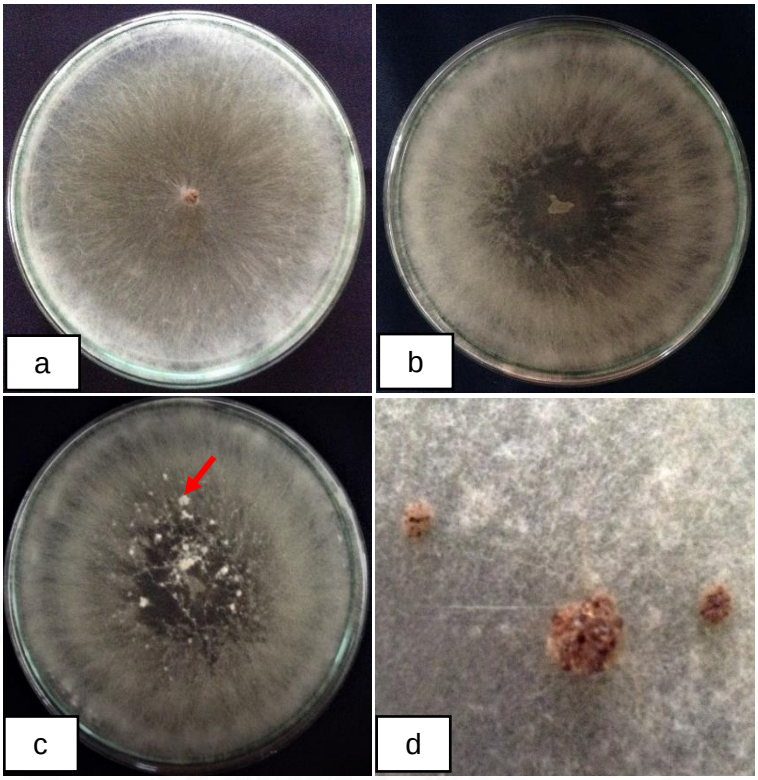
Gambar 21. Hasil uji hipersensitif pada tanaman tembakau (a,b) gejala nekrotik (wahyudi *et al*., 2011), (b) Perlakuan kontrol dengan akuades dan (c) perlakuan isolat B1 dan B2.

Berdasarkan hasil penelitian (Gambar 21), daun tanaman tembakau yang sudah diinjeksikan isolat bakteri menunjukkan warna yang hijau yang segar, tidak layu dan tidak menimbulkan gejala nekrosis. Hal ini sesuai dengan penelitian Danaatmadja (2009), jika bakteri yang diinjeksikan tidak menimbulkan gejala nekrosis dalam waktu 24 hingga 48 jam maka bakteri tidak bersifat patogen terhadap tanaman. Hal serupa juga dikemukakan oleh Kerr and Gibb (1997), apabila bakteri yang diinjeksikan adalah bakteri patogen maka akan menimbulkan gejala nekrosis pada daun tembakau.

4.5 Hasil Isolasi, Identifikasi dan Perbanyakan *Sclerotium rolfsii*

Pada tahap ini, jamur yang diidentifikasi adalah *S. rolfsii.* Isolat jamur patogen tersebut didapatkan dari hasil isolasi tanaman kedelai yang sakit. Kemudian, isolat jamur dipurifikasi untuk diidentifikasi agar lebih akurat. Identifikasi terdiri dari 2 bagian yaitu identifikasi secara makroskopis dan secara mikroskopis. Berdasarkan hasil identifikasi makroskopis yang telah dilakukan, pada gambar 10c miselium jamur berwarna putih dan halus seperti kapas, pertumbuhan jamur kesamping dan sklerotia memiliki warna putih (gambar 22c) hingga kecoklatan (gambar 22d).

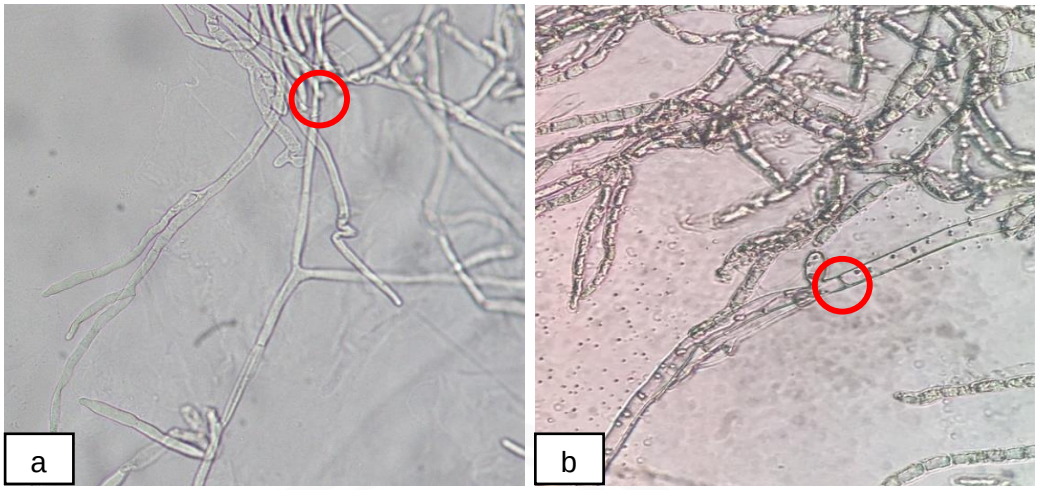
repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 22. (a) Hasil Isolasi Sklerotia *S. rolfsii*, (b) miselium *S. rolfsii* setelah purifikasi, (c) Sklerotia berwarna putih dan (d) Sklerotia berwarna kecoklatan

Menurut Lolong (2016), jamur *S. rolfsii* memiliki karakteristik miselium berwarna putih seperti berbulu dan membentuk hifa pada pinggiran koloni, kemudian tumbuh sklerotia berwarna putih kecoklatan sekitar 7-10 hari setelah inkubasi pada suhu ruang. Menurut Semangun (1993), sklerotia tumbuh dalam jangka waktu lama setelah inkubasi dikarenakan sklerotia merupakan sebuah bentuk pertahanan diri dari jamur *S. rolfsii* ketika sedang terjadi krisis baik dalam hal asupan nutrisi maupun keadaan lingkungannya yang merugikan. Sklerotia juga disebut sebagai fase dorman dari jamur patogen ini dan masa dorman tersebut akan berakhir jika kondisi lingkungan dari jamur sudah memenuhi atau sesuai untuk kebutuhan pertumbuhan dan perkembangannya (Lolong, 2016). Sumartini (2011), menyatakan bahwa sklerotia terdiri dari tiga lapisan, yaitu kulit dalam, kulit luar dan kulit teras. Bagian kulit dalam terdapat 6-8 lapisan sel, kulit luar 4-6 lapisan sel, sedangkan pada bagian kulit teras terdiri dari benang-benang hifa yang hialin dan tidak mengalami penebalan dinding sel.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



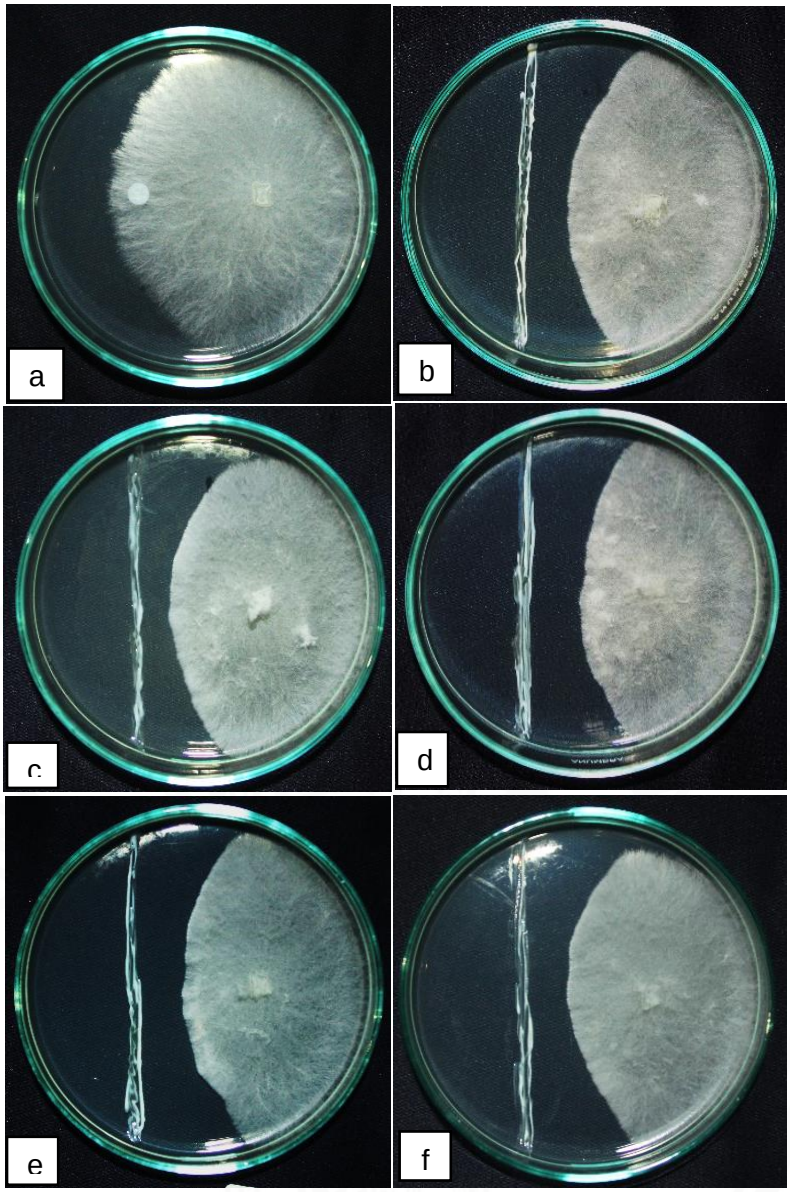
Gambar 23. Morfologi *Sclerotium rolfsii* pada perbesaran 400x. (a) Klam koneksi pada hifa *S. rolfsii* dan (b) Septa pada hifa *S. rolfsii*

Kemudian, pada identifikasi mikroskopis dari jamur *S. rolfsii* ini memiliki karakteristik hifa yang bersekat (23b) dan berwarna hialin serta tidak adanya konidia. Selain itu juga terdapat klam koneksi seperti yang tertera pada gambar 23a. Menurut Sukamto (2013), dan Kwon (2002), karakteristik khas dari jamur *Sclerotium rolfsis* selain hifa bersekat dan berwarna hialin adalah memiliki klam koneksi (*clamp connection*). Hal ini sesuai dengan Barnet dan Hunter (1998), bahwa jamur *S. rolfsii* ini tidak memiliki konidia, memiliki hifa dan *clamp connection* (penghubung).

4.6 Uji Antagonis secara *In Vitro*

Berdasarkan hasil penelitian, kelima isolat bakteri asam laktat menunjukkan adanya kemampuan untuk menekan pertumbuhan jamur *Sclerotium rolfsii.* Hal ini dikarenakan pertumbuhan miselium jamur seperti terhambat (Gambar 24b-f) dan bentuk miselium yang terhambat juga berbeda dengan bentuk miselium yang tumbuh pada kontrol (Gambar 24a). Selain itu, terdapat zona bening disekitar area bakteri asam laktat. Hal ini sesuai dengan Matei *et al*. (2014), dan Matei *et al*. (2016), bahwa aktivitas penekanan pertumbuhan ditandai dengan adanya zona bening yang terbentuk disekitar isolat yang diujikan.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA



Gambar 24. Hasil Uji Antagonis BAL terhadap *S. rolfsii* pada media PDA. (a) Perlakuan kontrol dengan akuades, (b) Isolat bakteri B1, (c) Isolat bakteri B2, (d) Perlakuan B3, (e) Perlakuan B4 dan (f) Perlakuan B5.

Berdasarkan hasil analisis ragam anova, uji antagonis terhadap jamur patogen dengan menggunakan bakteri asam laktat memiliki pengaruh yang nyata. Hal ini dapat dilihat pada tabel 4.4 yaitu isolat B3 merupakan isolat yang memiliki kemampuan antagonis terbaik dan berbeda nyata terhadap isolat B1 dan B2. Hal ini juga didukung dengan adanya zona bening yang terlihat disekitar isolat bakteri. Menurut Prihatiningsih *et al*. (2015), apabila terdapat zona bening disekitar isolat yang diujikan maka mekanisme antagonis yang digunakan adalah antibiosis. Antibiosis adalah mekanisme antagonis dengan menghasilkan

metabolit sekunder berupa antibiotik atau senyawa mirip antibiotik (Haggag dan Mohamed, 2007).

Tabel 9. Rerata Diameter Miselia Patogen *Sclerotium rolfsii* terhadap Bakteri Asam Laktat

Perlakuan	Rerata Persentase Zona Hambat (%)[1)]		
	12 JSI	24 JSI	36 JSI
K0	0,71 a	0,71 a	0,71 a
Isolat B1	4,21 b	4,31 bc	5,74 b
Isolat B2	3,89 b	4,11 b	5,74 b
Isolat B3	4,43 bc	5,27 d	6,80 d
Isolat B4	5,58 c	4,88 cd	6,30 c
Isolat B5	5,58 c	5,13 d	6,03 bc

Keterangan: [1)]Data Ditransformasi dalam bentuk $\sqrt{(X+0,5)}$ untuk kepentingan analisis

Bakteri asam laktat merupakan bakteri yang memiliki senyawa antimikroba seperti antifungal, antibakteri dan bakteriosin (Crowley *et al*., 2013; Ali *et al*., 2013; Mohammad *et al*., 2015; Sowmyalakshmi *et al*., 2015; Parada *et al*., 2007). Beberapa bakteri asam laktat yang dilaporkan memiliki senyawa antifungal yaitu bakteri *Lactobacillus plantarum* (Valerio *et al.*, 2004)*, L. sanfranciscensis* (Vermeulen *et al.,* 2006) dan *Lactobacillus casei* (Bianchini, 2015). Berdasarkan Husain *et al*. (2017), senyawa antifungal dari *Lactobacillus acidophilus* mampu menghambat pertumbuhan beberapa spesies jamur *Fusarium* sp yang diisolasi dari biji, daun hingga buah dari tanaman cabai. Selain itu, hal ini juga didukung oleh Yoo Ah (2016), bahwa salah satu bakteri asam laktat *Lactobacillus zeae* mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen pada tanaman yaitu *Rhizoctonia solani* dengan cara menghasilkan senyawa antifungal.

Senyawa antifungal oleh bakteri genus *Lactobacillus* sp. yang mampu menghambat pertumbuhan jamur patogen sangat bervasiasi seperti asam laktat dan asam asetat (Dalie *et al.* 2010), *caproic-acid* (Corsetti *et al*., 1998*), phenyl lactic acid*, *3-hydroxylated fatty acids* (Strom *et al.* 2002, 2005) dan *cyclic dipeptides* (Strom *et al*., 2002; Li *et al*., 2012). Selain itu, Wang *et al*, 2012 juga menyatakan bahwa bakteri *Lactobacillus plantarum* dapat menghambat beberapa jamur patogen pada tanaman seperti *Fusarium oxysporum* dan *Phytophthora. drechsleri Tucker* oleh senyawa antifungal *Benzeneacetic acid* dan *2-propenyl ester.*

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

V. PENUTUP

5. 1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Terdapat lima bakteri asam laktat yang ditemukan pada fermentasi sawi hijau, dan kelima isolat bakteri tersebut termasuk kedalam genus *Lactobacillus* sp.
2. Kelima isolat bakteri asam laktat berpotensi menekan pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* secara nyata. Isolat terbaik yang mampu menekan pertumbuhan *S. rolfsii* adalah isolat B4 dan B3.

5. 2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai keakuratan genus hingga spesies dari kelima isolat bakteri asam laktat dengan menggunakan uji molekuler.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme antagonis oleh bakteri asam laktat seperti jenis dari senyawa yang menghambat pertumbuhan jamur *S. rolfsii*.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR PUSTAKA

Agrios, G. N. 1996. Plant Pathology: Penerjemah Munzir Busnia dalam Ilmu Penyakit Tumbuhan. Gadjah Mada University Press.Yogyakarta.

Ainy, E. Q., R. Ratnayani, dan L. Susilawati. 2015. Uji Aktivitas Antagonis *Trichoderma harzianum* 11035 terhadap *Colletotrichum capsici* TCKR2 dan *Colletotrichum acutatum* TCK1 Penyebab Antraknosa pada Tanaman Cabai. Biologi, Sains, Lingkungan, dan Pembelajarannya : Seminar Nasional XII Pendidikan Biologi FKIP UNS. Hal 892-897.

Ali, F. S., O. A. O. Saad, dan A. H. Salwa. 2013. Antimicrobial Activity of Probiotic Bacteria. *Egypt Acad Journal Biolog Science*. 5(2) : 21 – 34.

Amaliah, Z. Z. N., S. Bahri, dan P. Amelia. 2018. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Dari Limbah Cair Rendaman Kacang Kedelai. *Jurnal Fitofarmaka Indonesia.* 5 (1) : 253 – 257.

Angelis, M. D., dan M. Gobbetti. 2011. Lactic Acid bacteria – *Lactobacillus* spp.: General Characteristics. Encyclopedia of Dairy Sciences, 2nd Edition : 78–90

Anggraini, R., D. Aliza, dan S. Mellisa. 2016. Identifikasi Bakteri *Aeromonas Hydrophila* Dengan Uji Mikrobiologi Pada Ikan Lele Dumbo (*Clarias gariepinus*) Yang Dibudidayakan Di Kecamatan Baitussalam Kabupaten Aceh Besar. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Kelautan dan Perikanan Unsyiah*. 1 (2) : 270 – 286.

Axelsson, L. 2004. Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: Salminen, S., Wright, A.V. and Ouwehand, A., Eds., *Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects 3rd Edition*, Marcel Dekker, New York. Hal : 1-67

Badan Karantina Pertanian (BKP). 2008. Pedoman Diagnosis Optik Golongan Bakteri. Badan Karantina Pertanian : Jakarta.

Bansal, S., A. Singh, M. Mangal, dan S. K. Sharma. 2013. Isolation and Characterization of Lactic Acid Bacteria from Fermented Foods. *Vegetos Journal.* 26 (2) : 325-330.

Barnett, H. L dan B. B. Hunter. 1998. Illustrasted Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. Buergess Publishing Company.

Bianchini, A. 2015. Lactic Acid Bacteria As Antifungal Agents. University of Nebraska–Lincoln, Lincoln, NE. USA.

Cahyono, B. 2003. Teknik dan Strategi Budi Daya Sawi Hijau. Yayasan Pustaka Nusatama : Jakarta.

Campana, R., S. V. Hemer, dan W. Baffone. 2017. Strain-Specific Probiotic Properties of Lactic Acid Bacteria and Their Interference with Human Intestinal Pathogens Invasion. *Gut Pathogens.* 9 (12) : 1-12.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Carr, F. J., D. Chill, dan N. Maida. 2002. The Lactic Acid Bacteria: A Literature. *Critical Reviews in Microbiology.* 28 (4) : 281–370.

Carvalho, R. D. D. O., F. L. R. D. Carmo, A. D. O. Junior, P. Langella, J. M. Chatel, L. G. B. Humaran, V. Azevedo, dan M. S. D. Azevedo. 2017. Use of Wild Type or Recombinant Lactic Acid Bacteria as an Alternative Treatment for Gastrointestinal Inflammatory Diseases: A Focus on Inflammatory Bowel Diseases and Mucositis. *Frontiers In Microbiology.* Vol. 8 : 1-13.

Chakoosari, M. M., M. F. Ghasemi, A. Masiha, R. K. Darsanaki, dan A. Amini. 2015. Antimicrobial Effect of Lactic Acid Bacteria Against Common Pathogenic Bacteria. *Medical Laboratory Journal*. 9(5) : 1 – 4.

Corsetti, A., M. Gobetti, J. Rossi, and P. Damiani. 1998. Anti mould activity of sourdough lactic acid bacteria: identification of a mixture of organic acids produced by *Lactobacillus sanfrancisco* CB1. *Appl Microbiol Biotechnol*, Volume 50 : 253–256.

Crowley, S., J. Mahony, dan D. V. Sinderen. 2013. Current Perspectives On Antifungal Lactic Acid Bacteria As Natural Bio-Preservatives. Trends In Food Science and Technology. Vol. 33 : 93-109.

Dalie, D. K. D., A. M. Deschamps. and F. Richard. 2010. Lactic acid bacteria – potential for control of mould growth and mycotoxins: a review. *Food Contro,* Volume 21 : 370–380.

Danaatmadja, Y., S. Subandiyah, T. Joko, dan C. U. Sari. 2009. Isolasi Dan Karakterisasi *Ralstonia Syzygii*. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 15 (1) : 7-12.

Dewi, S. S., dan H. Anggraini. 2012. Viabilitas Bakteri Asam Laktat Asal Asi Terhadap Ph Asam Lambung Dan Garam Empedu. Seminar Hasil-Hasil Penelitian – LPPM UNIMUS. Hal 97 – 102.

Dwivedi, S. K., dan G. Prasad. 2016. Integrated Management Of *Sclerotium rolfsii* : An Overview. *European Journal Of Biomedical And Pharmaceutical Sciences*. 3 (11) : 137-146.

Emmawati, A., B. S. L. Jenie, L. Nuraida, dan D. Syah. 2015. Karakterisasi Isolat Bakteri Asam Laktat dari Mandai yang Berpotensi Sebagai Probiotik. *Agritech*. 35 (2) : 146-155.

Faidah, F., F. Puspita, dan M. Ali. 2017. Identifikasi Penyakit Yang Disebabkan Oleh Jamur Dan Intensitas Serangannya Pada Tanaman Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Di Kabupaten Siak Sri Indrapura. *JOM Faperta UR*. 4 (1) : 1-14.

Fawzya, Y. N. 2010. Bahan Pengawet Nisin: Aplikasinya Pada Produk Perikanan. *Squalen*. Vol. 5 (3) : 79-85.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Hadiwiyono. 2008. Tanah Supresif: Terminologi, Sejarah, Karakteristik, Dan Mekanisme. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 14 (2) : 47 – 54

Haggag, W. M. dan H. A. L. A. Mohamed. 2007. Biotechnological Aspects of Microorganism Used in Plant Biological Control. *American-Eurasian Journal of Sustainable Agriculture.* 1 (1) : 7-12.

Hanudin, dan B. Marwoto. 2010. Prospek Penggunaan Mikroba Antagonis Sebagai Agens Pengendali Hayati Penyakit Utama Pada Tanaman Hias Dan Sayuran. *Jurnal Litbang Pertanian*. 31 (1) : 8-13.

Haryanto, E., S. Tina, R. Estu, dan S. Hendro. 2007. *Sawi dan Selada*. Penebar Swadaya : Jakarta

Holt, J. G. 1996. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Ninth Ed. A Wolters Kluwer Company. Philadelphia. Hal 562-570

Husain, A., Z. Hassan, N. H. Faujanc, M. N. Lanid. 2017. Antifungal Activity of Lactic Acid Bacteria Isolated from Soil Rhizosphere on *Fusarium* Species Infected Chilli Seeds. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences (ASRJETS)*. 29 (1) : 182 – 202.

Hussey, M. A., dan A. Zayaitz, 2016. Endospore Stain Protocol. American Society for Microbiology. Hal. 1-11

Istarofah, dan Z. Salamah. 2017. Pertumbuhan Tanaman Sawi Hijau (*Brassica juncea* L.) Dengan Pemberian Kompos Berbahan Dasar Daun Paitan (*Thitonia diversifolia*). *Bio-site*. 3 (1) : 39 – 46.

Istiqomah, I., I. R. Sastrahidayat, dan A. Muhibuddin. 2014. Pengaruh Penggunaan Inang Perantara Padi Gogo Terhadap Populasi Mikoriza Dan Intensitas Serangan Penyakit Rebah Semai (*Sclerotium rolfsii*) Pada Kedelai (*Glycine max* L.). *Jurnal HPT.* 2 (4) : 54-62.

Kartini, dan Widodo. 2000. Pengaruh Solarisasi Tanah Terhadap Pertumbuhan *Sclerotium rolfsii* Sacc. dan Patogenisitasnya Pada Kacang Tanah. *Buletin Mama dan Penyakit Tumbuhan.* 12 (2) : 53-59.

Kerr, A. and K. Gibb. 1997. Bacteria and Phytoplasma as Plant Parasites: *In Plant Pathogen and Plant Disease,* J.F. Brown and H.J. Ogle (eds). *Australian Plant Pathology Society*. Armidale.

Khairul, I., B. Vivi, Montong, dan M. M. Ratulangi. 2018. Uji Antagonisme *Trichoderma sp*. Terhadap *Colletotrichum capsici* Penyebab Penyakit Antraknosa Pada Cabai Keriting Secara *In Vitro*. *E- journal Unsrat*. 1 (2).

Khalid, K., L. H. Kiong, dan Z. Z. Chowdhury. 2011. Antimicrobial Interaction of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* Against Some Pathogenic Bacteria. *International Journal of Biosciences*. 1 (3) : 39-44.

Kleerebezem, M., O. P. Kuipers, dan E. J. Smid. 2017. Editorial: Lactic Acid Bacteria - A Continuing Journey In Science and Application. *FEMS Microbiology Reviews.* 41 (Supp 1) : S1-S2.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Kurniadi, A. 1992. *Sayuran Yang Digemari*. Harian Suara Tani : Jakarta.

Kurniasih, R., S. Djauhari, A. Muhibuddin dan E. P. Utomo. 2014. Pengaruh Sitronelal Serai Wangi (*Cymbopogon winterianus* Linn) Terhadap Penekanan Serangan *Colletotrichum* Sp. Pada Tanaman Bawang Daun (*Allium fistulosum* L.). *Jurnal HPT.* 2 (4) : 11-21.

Kwon, J. H, dan C. S. Park. 2002. Stem Rot of Tomato Caused by *Sclerotium rolfsii* in Korea*. Mycobiology*. 30 (4) : 244 - 246.

Kwon, J. H. 2010. Stem Rot of Garlic (*Allium sativum*) Caused by *Sclerotium rolfsii. Journal of Mycobiology*. 38 (2) : 156-158.

Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. dan Von Wright, A., Eds.. 2012*. Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 4th Edition*. Tayor & Francis Group LLC, CRC Press : Boca Raton.

Laily, I. N., R. Utami, dan E. Widowati. 2013. Isolasi Dan Karakterisasi Bakteri Asam Laktat Penghasil Riboflavin Dari Produk Fermentasi Sawi Asin. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 2(4) : 179-184.

Li, H., Liu, L., S. Zhang, Cui, dan W. L. V. Jei. 2012. Identification of antifungal compounds produced by *Lactobacillus casei* AST18. *Curr Microbiol.* Volume 65 : 156–161.

Liu, W., H. Pang, H. Zhang, dan Y. Cai. 2014. Biodiversity of lactic acid bacteria in *Lactic Acid Bacteria*, eds. H. Zhang and Y. Cai (Berlin: Springer), 103–203.

Lolong, A. A., Salim, dan N. L. Barri. 2016. Serangan Cendawan *Sclerotium rolfsii* Pada Beberapa Varietas Kedelai yang Ditanam di Beberapa Sistem Tanam Kelapa. *Buletin Palma*. 17 (2) : 139 – 146.

Magenda, S., F. E. F. Kandou, dan S. D. Umboh. 2011. Karakteristik Isolat Jamur *Sclerotium rolfsii* dari Tanaman Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* Linn.). *Jurnal Bioslogos.* 1 (1) : 1-7.

Mangunwardoyo, W., Abinawanto, A. Salamah, E. Sukara, Sulistiani, dan A. Dinoto. 2016. Diversity And Distribution Of Culturable Lactic Acid Bacterial Species In Indonesian Sayur Asin. *Iran. J. Microbiol*. 8 (4) : 274-281.

Marsigit, W., dan Hemiyetti. 2018. Ketersidiaan Bahan Baku, Kandungan Gizi, Potensi Probiotik Dan Daya Tahan Simpan Sawi Asin Kering Kabupaten Rejang Lebong Sebagai Produk Agroindustri. *Jurnal Agroindustri*. 8 (1) : 34-43.

Matei, G. M., A. Matei, dan S. Matei. 2014. Screening Of Lactic Acid Bacterial And Fungal Strains For Their Efficiency In Biocontrol Of Mycotoxigenic Contaminants Of Food. *Research Journal of Agricultural Science*. 46 (2) : 182-190.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Matei, G. M., S. Matei, dan V. Mocanua. 2016. Isolation Of New Probiotic Microorganisms From Soil And Screening For Their Antimicrobial Activity. *Soil Forming Factors and Processes from the Temperate Zone.* Vol. *1*5 : 21-26.

Maunatin, A., dan Khanifa. 2012. Uji Potensi Probiotik *Lactobacillus plantarum* Secara *In Vitro*. *Jurnal ALCHEMY*. 2 (1) : 26-34.

Mohammad, M. C., M. F. Ghasemi, A. Masiha, R. K. Darsanaki, dan A. Amini. 2015. Antimicrobial Effect of Lactic Acid Bacteria against Common Pathogenic Bacteria. *Medical Laboratory Journal*. 9 (5) :1 – 4.

Monika, Savitri, V. Kumar, A. Kumari, K. Angmo, dan T. C. Bhalla. 2017. Isolation And Characterization Of Lactic Acid Bacteria From Traditional Pickles Of Himachal Pradesh, India. *Journal of food science and technology*. 54 (7) : 1945-1952.

Muhibuddin, A. 2010. Antagonisme Streptomyces terhadap *Sclerotium rolfsii saac*. Penyebab penyakit rebah semai pada tanaman kedelai.

Muhibuddin, A., A. W. Sektiono, dan D. M. Sholihah. 2018. Potential Of Wild Yeast From Banana To Control *Colletotrichum musae* Fungi Caused Anthracnose Disease And Its Short Antagonistic Mechanism Assay. *Journal of Tropical Life Science.* Vol. 9 (1).

Mukamto, S. Ulfah, W. Mahalina, A. Syauqi, L. Istiqfaroh, dan G. Trimulyono. 2015. Isolasi dan Karakterisasi *Bacillus* sp. Pelarut Fosfat dari Rhizosfer Tanaman Leguminosae. *Jurnal Sains & Matematika*. 3 (2) : 62 – 68

Nastiti, C. T., N. E. Sugijanto, dan Isnaeni. 2015. Pengaruh Pasta Tomat (*Solanum lycopersicum* L.). Pada Pertumbuhan Dan Daya Hambat *Lactobacillus acidophilus* Fncc-0051 Dan *Lactobacillus plantarum* Fncc-0027 Terhadap *Candida albicans. Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2 (1) : 20-24.

Parada, J. L., C. R. Caron, A. Bianchi, P. Medeiros, dan C. R. Soccol. 2007. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, Properties and use as Biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology.* 50 (3) : 521-542.

Paul, N. C., E. J. Hwang, N. Sangsik, L. Hyeong-Un, L. J. Seol, Y. G. Dan, K. Yonggu, L. KyeongBo, S. Go, dan Y. J. Wook. 2017. Phylogenetic Placement and Morphological Characterization of *Sclerotium rolfsii* (Teleomorph: *Athelia rolfsii*) Associated with Blight Disease of *Ipomoea batatas* in Korea. *Journal of Mycobiology*. 45 (3) : 129-138.

Pratiwi, B. N., L. Sulistyowati, A. Muhibuddin, dan A. Kristini. 2013. Uji Pengendalian Penyakit Pokahbung (*Fusarium moniliformae*) Pada Tanaman Tebu (*Saccharum Officinarum)* Menggunakan *Trichoderma* Sp. Indigenous Secara In Vitro Dan In Vivo. *Jurnal HPT.* 1 (3) : 119 – 129.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Prihatiningsih, N., T. Arwiyanto, B. Hadisutrisno, dan J. Widada. 2015. Mekanisme Antibiosis *Bacillus subtilis* B315 Untuk Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Kentang. *Jurnal HPT Tropika.* 15 (1) : 64-71.

Purnomo, E., Mukarlina dan Rahmawati. 2017. Uji Antagonis Bakteri Streptomyces spp. terhadap Jamur *Phytophthora palmivora* BBK01 Penyebab Busuk Buah pada Tanaman Kakao. *Protobiont.* 6 (3) : 1 – 7

Purnomo, H. 2010. Pengantar Pengendalian Hayati. Andi Offset : Yogyakarta.

Reiner, Karen. 2016. Catalase Test Protocol. *American Society for Microbiology.* Bartlett Publishers, Inc., Sudbury, MA.

Ridge, G., dan B. Shew. 2014. *Sclerotium rolfsii* (Southern Blight of Vegetables and Melons). Center for Invasive Species and Ecosystem Health at The University of Georgia : Georgia.

Rukmana. 2002. Bertanam Sayuran Petsai Dan Sawi. Kanisius : Yogyakarta.

Sardiani, N., M. Litaay, R. G. Budji, D. Priosambodo, Syahribulan dan Z. Dwyana. 2015. Potensi Tunikata *Rhopaleae sp* Sebagai Sumber Inokulum Bakteri Endosimbion Penghasil Antibakteri; 1. Karakterisasi Isolat. *Jurnal Alam dan Lingkungan*. 6 (11).

Sastrahidayat, I. R., S. Djauhari, N. Saleh, dan A. Muhibuddin. 2011. Control Of "Damping Off" Disease Caused By Sclerotium Rolfsii Sacc. Using actino mycetes and Vam Fungi On Soybean In The Dry Land Based On Microorganism Diversity Ofrhizosphere Zone. *Agrivita.* 33 (1) : 40 - 46.

Semangun, H. 1993. Penyakit-penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. *(Food crop diseases in Indonesia)*. Gadjah Mada University Press.

Semangun, H. 2004. *Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia.* Gajah Mada University : Yogyakarta.

Setiawan, A., I. R. Sastrahidayat, dan A. Muhibuddin. 2014. Upaya Penekanan Serangan Penyakit Rebah Semai (*Sclerotium roflsii*) Pada Tanaman Kedelai (*Glycine max L.*) Dengan Mikoriza Yang Diperbanyak Dengan Inang Perantara Tanaman Kacang Tanah. *Jurnal HPT.* 2 (4) : 36-43.

Shobahiya, N. 2017.Pengaruh Jenis Media Fermentasi dan Konsentrasi Garam Terhadap Karakteristik Asinan Sawi Hijau.Skripsi. PS Teknologi Pangan, Fakultas Teknik, Universitas Pasundan. Bandung

Shofiana, R. H., L. Sulistyowati, dan A. Muhibuddin. 2015. Eksplorasi Jamur Endofit Dan Khamir Pada Tanaman Cengkeh (Syzygium Aromaticum) Serta Uji Potensi Antagonismenya Terhadap Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*). *Jurnal HPT.* 3 (1) : 75-83

Soekartawi. 2005. *Pengantar Agroindustri*. Raja Grafindo Persada :Jakarta.

Soleimani, N. A., R. A. Kermanshahi, B. Yakhchali, dan T. N. Sattari. 2011. Antagonistic activity of probiotic Lactobacilli against *Staphylococcus*

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

aureus isolated from bovine mastitis. *African Journal of Microbiology Research*. 4 (20): 2169-2173.

Sowmyalakshmi, S. dan D. L. Smith. 2015. Bacteriocins From The Rhizosphere Microbiome – From An Agriculture Perspective. *Frontiers in Plant Science.* Vol. 8 (article 909) : 1-7.

Strom, K., Sjogren, J., A. Broberg, dan J. Schnurer. 2002. *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo (L-Phe- L-Pro) and cyclo (L-Phe- trans-4-OH- L-Pro) and phenyllactic acid. *Appl Environ Microbiol*, Volume 68 : 4322–4327.

Strom, K., J. Schnurer, dan P. Melin. 2005. Co-cultivation of antifungal Lactobacillus plantarum MiLAB 393 and Aspergillus nidulans, evaluation of effects on fungal growth and protein expression. *FEMS Microbiol Lett*, Volume 246 : 119–124.

Sukamto, dan D. Wahyuno. 2013. Identifikasi Dan Karakterisasi *Sclerotium rolfsii sacc.* Penyebab Penyakit Busuk Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth). *Jurnal Bul. Littro.* 24 (1) : 35-41.

Sulistiani, Abinawanto, E. Sukara, A. Salamah, A. Dinoto, dan W. Mangunwardoyo. 2014. Identification Of Lactic Acid Bacteria In Sayur Asin From Central Java (Indonesia) Based On 16S rDNA Sequence. *International Food Research Journal*. 21 (2) : 527-532.

Sumartini. 2012. Penyakit Tular Tanah (*Sclerotium rolfsii* dan *Rhizoctonia solani*) pada Tanaman Kacang-kacangan Dan Umbi-Umbian Serta Cara Pengendaliannya. *Jurnal Litbang Pertanian*. 31 (1) : 27-34.

Swain, M. R., M. Anandharaj, R. C. Ray, dan R. P. Rani. 2014. Fermented Fruits And Vegetables Of Asia: A Potential Source Of Probiotics. *Biotechnology Research International*. Vol. 2014. 250424. Hal. 1 – 19.

Taale, E., A. Savadogo, H. Sinna, C. Zongo, S. D. Karou, L. B. Moussa, dan A. S. Traore. 2016. Searching For Bacteriocin Pln Loci From *Lactobacillus* Spp. Isolated From Fermented Food In Burkina Faso By Molecular Methods. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology.* 7 (3) : 84-93.

Tanzil, A. I., A. Muhibuddin, dan S. Djauhari. 2015. Eksplorasi Jamur Tanah Pada Rizosfir Tomat Di Lahan Endemis Dan Non Endemis *Fusarium Oxysporum* F. Sp. Lycopersici. *Jurnal HPT.* 3 (1) : 11 – 20.

Thakkar, P., H. A. Modi, dan J. B. Prajapati. 2015. Isolation, Characterization And Safety Assessment Of Lactic Acid Bacterial Isolates From Fermented Food Products. *International Journal Current Microbiology Applied Sci*ences. 4 (4) : 713-725.

Tombe, M. 2002. Potensi Agensia Hayati Dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Berwawasan Lingkungan Dan Peranannya Dalam Meningkatkan Sektor Agribisnis. Prosiding Seminar Nasional PFI Komda Purwokerto. Hal 13-34.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Valerio, F., P. Lavermicocca, M. Pascale, dan A. Visconti. 2004. Production Of Phenyllactic Acid By Lactic Acid Bacteria: An Approach To The Selection Of Strains Contributing To Food Quality And Preservation. *FEMS Microbiology Letters*. 233 (2) : 289–295.

Vantsawa, P. A., U. T. Maryah, dan B. Timothy. 2017. Isolation and Identification of Lactic Acid Bacteria with Probiotic Potential from Fermented Cow Milk (Nono) in Unguwar Rimi Kaduna State Nigeria. *American Journal of Molecular Biology.* Vol. 7 : 99-106.

Vermeulen, N., M. G. Ganzle, dan R. F. Vogel. 2006. Influence Of Peptide Supply And Cosubstrates On Phenylalanine Metabolism Of *Lactobacillus sanfranciscensis* DSM20451^{T} And *Lactobacillus plantarum* TMW1.468. *J. Agric. Food Chem. 54* (11) : 3832–3839.

Von, W. A. dan L. Axelsson. 2012. Lactic Acid Bacteria: An Introduction. In: Lahtinen, S., Ouwehand, A.C., Salminen, S. and von Wright, A., Eds., Lactic Acid Bacteria: Microbiological and Functional Aspects, 4th Edition, Tayor & Francis Group LLC, CRC Press, Boca Raton, 1-16.

Wahyudi, A. T., S. Meliah, dan A. A. Nawangsih. 2011. *Xanthomonas oryzae* pv. oryzae Bakteri Penyebab Hawar Daun Pada Padi: Isolasi, Karakterisasi, Dan Telaah Mutagenesis Dengan Transposon. *Makara, Sains*. 15 (1) : 89-96.

Wang, H. K., Y. Yan, J. M. Wang, H. Zhang, dan W. Qi. 2012. Production and Characterization of Antifungal Compounds Produced by *Lactobacillus plantarum* IMAU10014. PLoS ONE, 7 (1) : 1-7.

Wulandari, D., L. Sulistyowati, dan A. Muhibuddin. 2014. Keanekaragaman Jamur Endofit Pada Tanaman Tomat (*Lycopersicum esculentum* Mill.) Dan Kemampuan Antagonisnya Terhadap *Phytophthora infestans*. *Jurnal HPT*. 2 (1) : 110-118

Yoo, J. A., Y. M. Lim, dan M. H. Yoon. 2016. Production And Antifungal Effect Of 3-Phenyllactic Acid (PLA) By Lactic Acid Bacteria. *J. Appl. Biol. Chem*. 59 (3) : 173−178.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA