



**PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis* PADA MEDIA
PERBANYAKAN CAIR DAN DAYA
ANTAGONISNYA TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense***

SKRIPSI

Oleh

**Rizki Amrillah Hanif
NIM. 121510501015**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**



**PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis* PADA MEDIA
PERBANYAKAN CAIR DAN DAYA
ANTAGONISNYA TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense***

SKRIPSI

Diajukan guna memenuhi salah satu persyaratan untuk menyelesaikan
Program Sarjana pada Program Studi Agroteknologi (S1)
Fakultas Pertanian Universitas Jember

Oleh

**Rizki Amrillah Hanif
NIM. 121510501015**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS JEMBER
2016**

PERSEMBAHAN

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah Subhanahu wa ta'ala, skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Ibunda Sugihartini dan Ayahanda Taslim, kuhaturkan terimakasih atas segala kasih sayang, pengorbanan, serta do'a yang selalu dipanjatkan yang mungkin tidak dapat terbalas dengan apapun;
2. Semua guru sejak Sekolah Dasar hingga Perguruan Tinggi yang telah mendidik dan memberikan ilmunya;
3. Teman-teman tercinta, atas motivasi dan dukungan yang telah diberikan selama ini
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember

MOTTO

“Sesungguhnya Allah tidak akan mengubah nasib suatu kaum, kecuali kaum itu sendiri yang mengubah apa-apa yang ada dalam diri mereka”

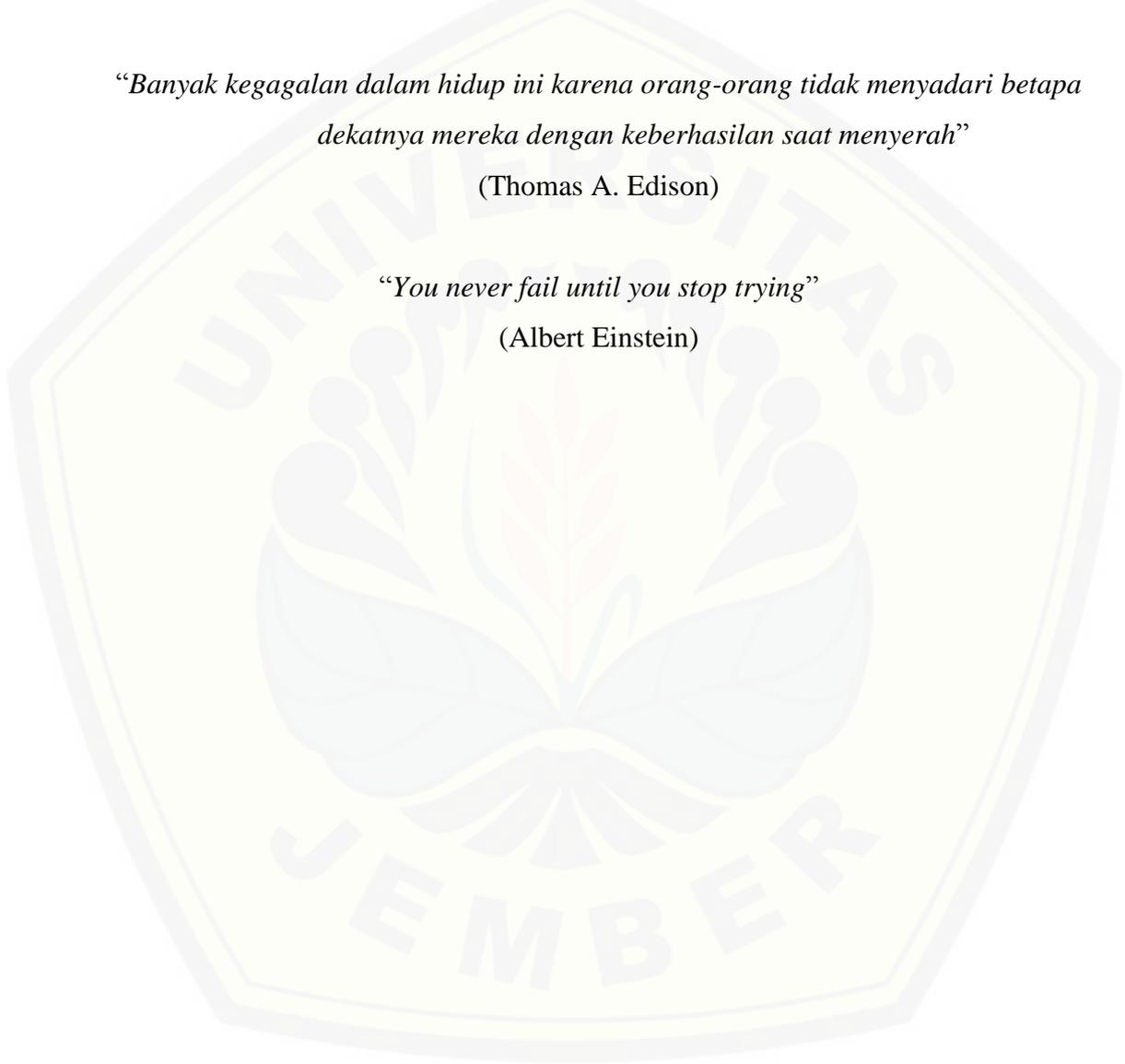
(Q.S. al Ra’d 13: 11)

“Banyak kegagalan dalam hidup ini karena orang-orang tidak menyadari betapa dekatnya mereka dengan keberhasilan saat menyerah”

(Thomas A. Edison)

“You never fail until you stop trying”

(Albert Einstein)



PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Rizki Amrillah Hanif

NIM : 121510501015

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: **“Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada Media Perbanyakan Cair dan Daya Antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum f.sp. cubense*”** adalah benar hasil karya sendiri, kecuali disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakkan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 13 September 2016

Yang menyatakan

Rizki Amrillah Hanif
NIM. 121510501015

SKRIPSI

**PERTUMBUHAN *Bacillus subtilis* PADA MEDIA
PERBANYAKAN CAIR DAN DAYA
ANTAGONISNYA TERHADAP
Fusarium oxysporum f.sp. *cubense***

Oleh

**Rizki Amrillah Hanif
NIM. 121510501015**

Pembimbing:

- Pembimbing Utama : Dr. Suhartiningsih Dwi N., SP., M.Sc.
NIP. 197303252003122002
- Pembimbing Anggota : Hardian Susilo A., SP., MP. Ph.D.
NIP. 198011092005011001

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada Media Perbanyakan Cair dan Daya Antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum f.sp. cubense***” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Senin

Tanggal : 13 September 2016

Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Penguji 1

Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS.,
Ph.D.
NIP. 195212171980032001

Dosen Penguji 2

Ir. Abdul Majid, MP.
NIP. 196709061992031004

Dosen Pembimbing Utama

Dr. Suhartiningsih Dwi N., SP., M.Sc.
NIP. 197303252003122002

Dosen Pembimbing Anggota

Hardian Susilo A., SP., MP. Ph.D.
NIP. 198011092005011001

Mengesahkan,

Dekan,

Dr. Ir. Jani Januar, M.T.
NIP. 195901021988031002

RINGKASAN

Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada Media Perbanyakkan Cair dan Daya Antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*; Rizki Amrillah Hanif, 121510501015; 2016: 23 halaman; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

B. subtilis merupakan salah satu agen antagonis yang dapat digunakan untuk mengendalikan *F. oxysporum*. Perbanyakkan *B. subtilis* biasanya menggunakan media sintetis seperti *Nutrien Broth* (NB) yang harganya relatif mahal. Oleh sebab itu, perlu dicari media alternatif untuk perbanyakkan *B. subtilis* yang tersedia melimpah, murah, mudah diperoleh dan cocok untuk perkembangan bakteri antagonis. Limbah cair organik berpotensi untuk digunakan sebagai media perbanyakkan *B. subtilis*, karena mengandung karbon dan protein yang dibutuhkan untuk perkembangan bakteri. Adapun tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui limbah cair yang paling baik untuk perbanyakkan *B. subtilis*.

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) 5 perlakuan dengan 4 ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu L1= kontrol (aquades 75 ml), L2= limbah cair tahu 75 ml, L3= Limbah air kelapa 75 ml, L4= Limbah cucian beras 75 ml dan L5= Limbah air rendaman kedelai 75 ml dengan penambahan kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml pada masing-masing perlakuan. Setiap 2 minggu sekali dilakukan pengamatan terhadap populasi dan daya hambat *B. subtilis* T1 terhadap pertumbuhan *F. oxysporum*.

Semua limbah yang digunakan mampu mendukung pertumbuhan *B. subtilis* T1 dengan populasi berkisar $10^9 - 10^{10}$ cfu/mL pada pengamatan minggu ke-2. Hasil terbaik ditunjukkan oleh media air kelapa dengan jumlah koloni *B. subtilis* T1 berkisar $10^{10} - 10^7$ cfu/mL pada pengamatan minggu ke-2 sampai ke-8. Kandungan nutrisi pada air kelapa yang berupa senyawa organik sederhana diduga menjadi faktor penting dalam mendukung pertumbuhan *B. subtilis* T1. Penggunaan limbah tersebut sebagai media perbanyakkan tidak mempengaruhi daya antagonisme *B. subtilis* T1 terhadap *F. oxysporum* SR.

SUMMARY

The Growth of *Bacillus Subtilis* on Liquid Propagation Media and Antagonistic Ability Against *Fusarium oxysporum* f.sp. *ubense*; Rizki Amrillah Hanif, 121510501015; 2012: 23 pages; Agroteknologi Studies Program; Faculty of Agriculture; University of Jember.

B. subtilis is an antagonist agent that can be used to control *F. oxysporum*. Usually, propagation of *B. subtilis* uses synthetic media such as Nutrient Broth (NB), which is relatively expensive. Therefore, it is necessary to find an alternative medium for the multiplication of *B. subtilis* that are abundant, cheap, easily available and suitable for growth of antagonistic bacteria. Organic liquid waste has potential in utilization as medium for the multiplication of *B. subtilis*, because it contains carbohydrates and protein needed for the growth of bacteria. The purpose of this study was to determine the liquid waste is best for the multiplication of *B. subtilis*.

This study used a completely randomized design five treatments with four replications. The treatments were L1 = control (distilled water 75 ml), L2 = tofu wastewater 75 ml, L3 = coconut wastewater 75 ml, L4 = rice washing water 75 ml and L5 = soybeans submerged water 75 ml with the addition of broth of fish bones 20 ml + 5 ml molasses on each treatment. The population and inhibition *B. subtilis* T1 on the growth of *F. oxysporum* was observed every 2 weeks.

All waste can be used to support the growth of *B. subtilis* T1 with populations ranging from 10^9 - 10^{10} cfu/mL at 2 weeks observations. The best results were shown by media coconut water with a number of colonies of *B. subtilis* T1 range 10^{10} - 10^7 cfu/mL at 2-8 weeks observations. The content of nutrients in coconut water are form of simple organic compounds thought to be an important factor in the growth of *B. subtilis* T1. The use of such waste as a propagation medium does not affect the antagonism ability of *B. subtilis* T1 against *F. oxysporum* SR.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran ALLAH S.W.T. yang senantiasa melimpahkan rahmat dan maghfirah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis mahasiswa yang berjudul “Pertumbuhan *Bacillus Subtilis* pada Media Perbanyak Cair dan Daya Antagonisnya terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*”. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penyusunan karya ilmiah tertulis ini, yaitu:

1. Bapak Taslim dan Ibu Sugihartini yang selalu memberikan dukungan dan doa demi kelancaran penyusunan karya tulis ini.
2. Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyanti, SP., M.Sc. dan Hardian Susilo Addy, SP., MP. Ph.D. selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ini
3. Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D. dan Ir. Abdul Majid, MP. selaku Dosen Penguji 1 dan Dosen Penguji 2 yang telah memberikan evaluasi dan masukan demi kesempurnaan karya tulis ini
4. Prof. Dr. Ir. Didik Sulistyanto, M.Ag.Sc. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan arahan sejak awal memasuki perkuliahan sampai selesainya studi S1 saya
5. Ir. Sigit Prastowo, MP. selaku Ketua Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan
6. Ir. Hari Purnomo, M.Si., Ph.D., DIC. selaku Ketua Program Studi Agroteknologi
7. Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Jember.
8. Shofiyya Farras Setyawan yang selalu menjadi pendamping dan penyemangat hidup
9. Sahabatku Muzayyinul Ghuftron, Imron Rosyidi, M. Zhakaria dan Ach. Habibi yang selalu membantu dan memberi masukan
10. Bapak dan Ibu Muzayyinul Ghuftron yang telah membantu dalam menyediakan bahan penelitian
11. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Penyakit Tanaman yang telah memberikan semangat dan bantuan dalam penelitian

12. Teman-teman Cover'A yang telah memberikan dukungan dan semangat sejak penyusunan proposal sampai selesainya karya tulis ini

13. Teman-teman seperjuangan di Program Studi Agroteknologi

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca guna penyempurnaan karya ilmiah tertulis ini. Akhirnya penulis berharap, semoga tulisan ini dapat bermanfaat. Terima kasih.

Jember, 13 September 2016

Penulis



DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBING	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
SUMMARY	ix
PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar belakang.....	1
1.2 Perumusan masalah	3
1.3 Tujuan dan Manfaat.....	3
1.3.1 Tujuan.....	3
1.3.2 Manfaat	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	4
2.1.1 Karakteristik	4
2.1.2 Daur Hidup	5
2.1.3 Gejala Serangan.....	5
2.2 <i>Bacillus subtilis</i> sebagai Agens Antagonis	6
2.2.1 Karakteristik	6
2.2.2 Ekologi	6
2.3 Perbanyakkan Massal Agensia Pengendali Hayati	7

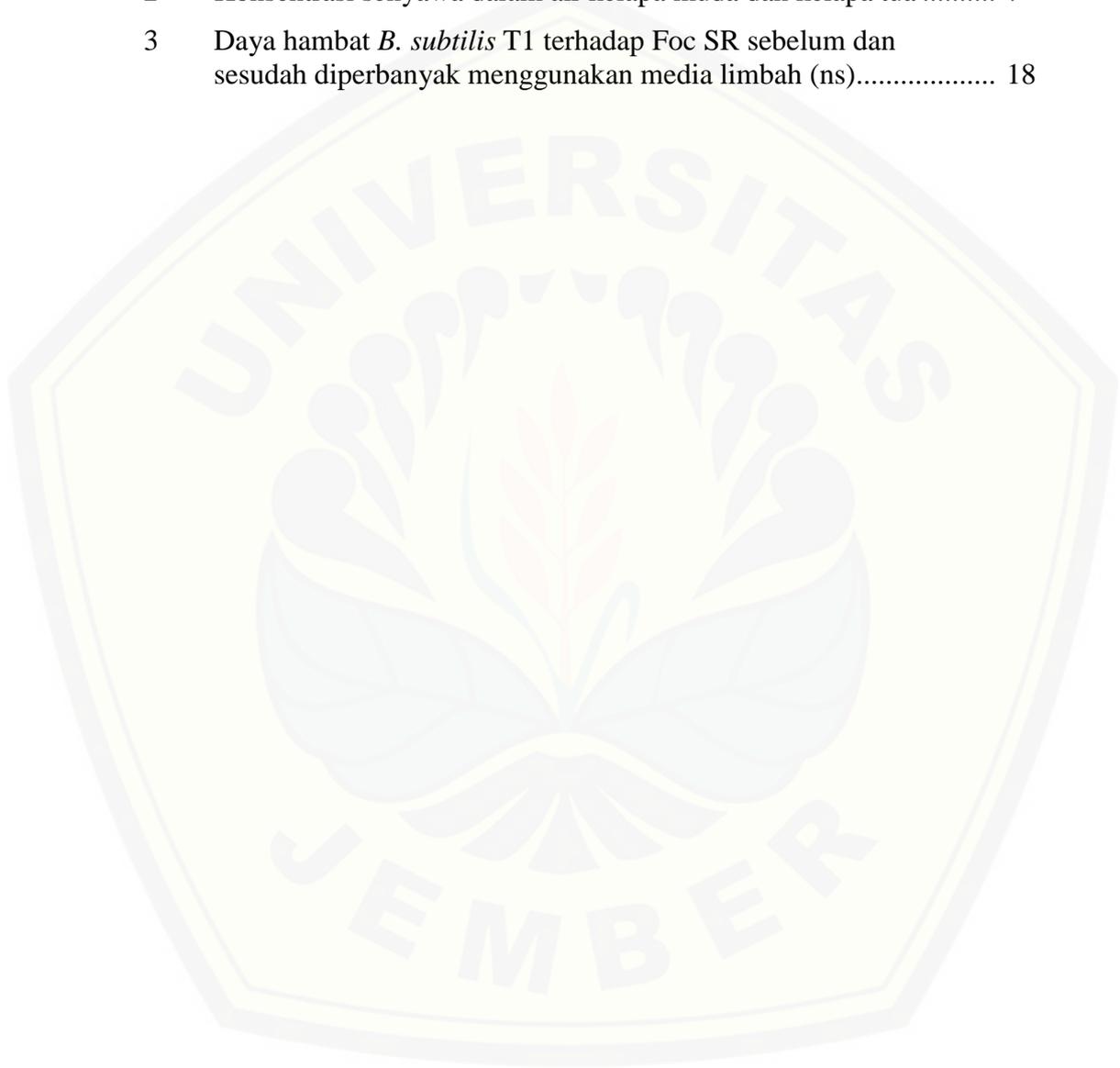
2.4 Potensi Pemanfaatan Limbah Cair Organik untuk Media Perbanyak Agensia Pengendali Hayati	7
2.4.1 Limbah Cair Tahu.....	7
2.4.2 Limbah Air Kelapa	8
2.4.3 Limbah Air Cucian Beras	9
2.4.4 Limbah Air Rendaman Kedelai.....	9
2.4.5 Kaldu Tulang Ikan.....	9
2.5 Hipotesis	10
BAB 3. METODE PENELITIAN	11
3.1 Waktu dan Tempat	11
3.2 Rancangan percobaan	11
3.3 Pelaksanaan penelitian	11
3.3.1 Isolasi <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>cubense</i>	11
3.3.2 Peremajaan <i>Bacillus subtilis</i> T1	12
3.3.3 Uji Daya Hambat <i>Bacillus subtilis</i> T1 sebelum di perbanyak...	12
3.3.4 Pembuatan Media Perbanyak.....	12
3.3.5 Perhitungan Populasi dan Uji Daya Hambat <i>Bacillus subtilis</i> T1 setelah Diperbanyak di Media Limbah	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	15
4.1 Karakteristik Patogen Penyebab Layu pada Pisang.....	15
4.2 Karakteristik <i>Bacillus subtilis</i> T1.....	15
4.3 Pertumbuhan <i>Bacillus subtilis</i> T1 dalam Media Limbah Cair	16
4.4 Daya Hambat <i>Bacillus subtilis</i> T1 terhadap <i>Fusarium oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> SR yang diperbanyak pada Media Limbah Cair	18
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	20
5.1 Kesimpulan	20
5.2 Saran	20
DAFTAR PUSTAKA	21

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
1	<i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> yang diisolasi dari daun bibit pisang; a) mikrokonidia, b) konidiofor c) koloni cendawan d) konidium.....	4
2	Gejala serangan <i>F. oxysporum</i> f.sp. <i>cubense</i> pada daun bibit pisang (a), koloni cendawan (b) dan konidia makro (c) miselium (D), hifa (E).....	15
3	Koloni <i>B. subtilis</i> T1, A) biakan murni menggunakan metode gores, dan B) biakan murni menggunakan metode <i>pour plate</i>	16
4	Populasi <i>B. subtilis</i> T1 pada media limbah, setiap titik yang diikuti notasi sama pada waktu pengamatan yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata dalam Uji Duncan 5%	17
5	Daya hambat <i>B. subtilis</i> T1 (Bs) terhadap Foc SR (Fo) sebelum diperbanyak pada media limbah (A) dan sesudah diperbanyak menggunakan media limbah tahu (B), air kelapa (C), air leri (D), air kedelai (E) dan kontrol (F).....	19

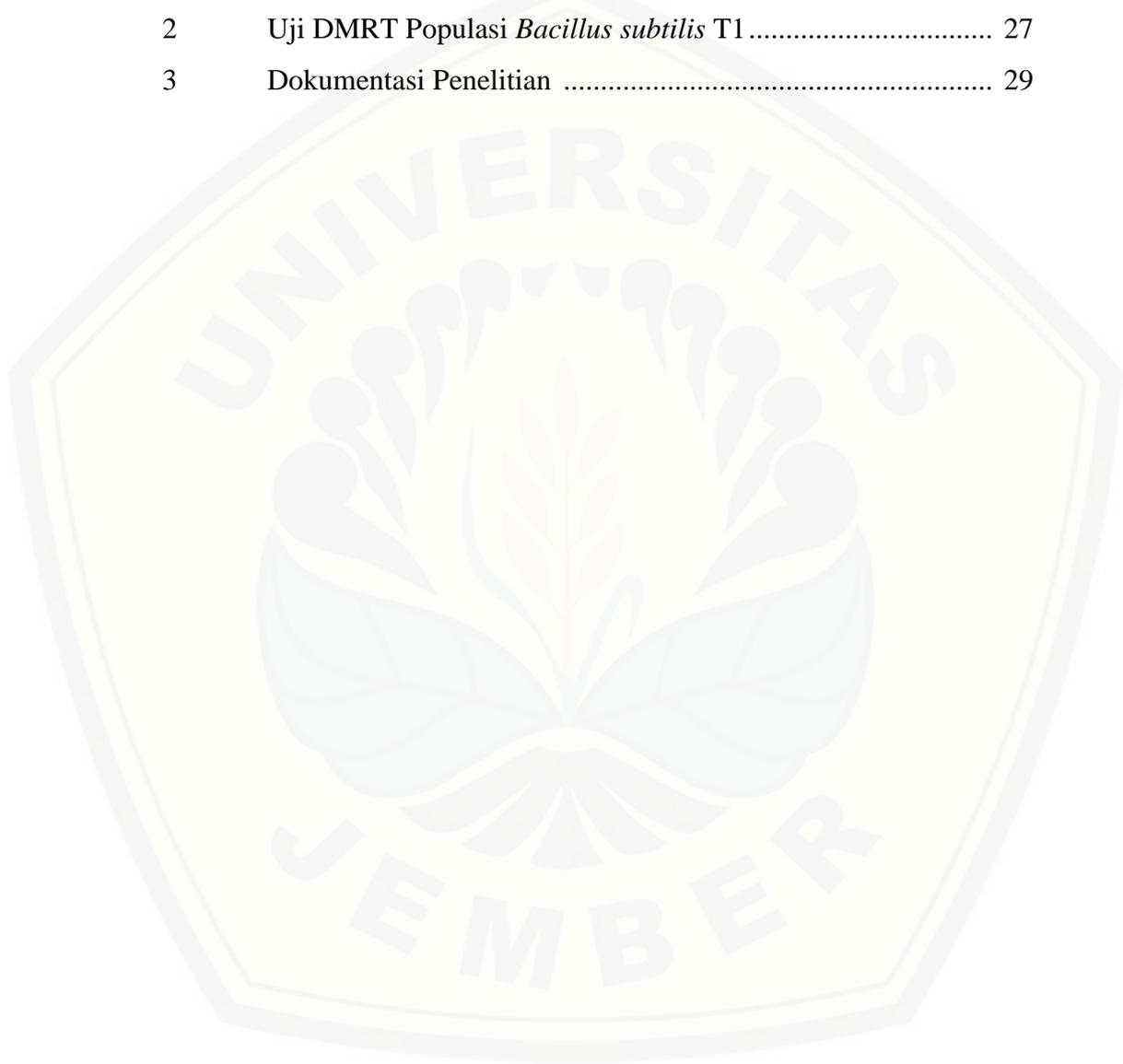
DAFTAR TABEL

Tabel	Judul	Halaman
1	Kandungan pencemar limbah cair tahu	7
2	Konsentrasi senyawa dalam air kelapa muda dan kelapa tua	7
3	Daya hambat <i>B. subtilis</i> T1 terhadap Foc SR sebelum dan sesudah diperbanyak menggunakan media limbah (ns).....	18



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Judul	Halaman
1	Analisis Ragam Populasi dan Daya Hambat <i>Bacillus subtilis</i> T1	24
2	Uji DMRT Populasi <i>Bacillus subtilis</i> T1	27
3	Dokumentasi Penelitian	29



BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Buah pisang termasuk salah satu buah dengan jumlah produksi yang paling tinggi di antara buah-buah lainnya di Indonesia. Produksi pisang di Indonesia mengalami peningkatan dengan rata-rata 3,94% pertahunnya sejak tahun 1980-2013. Pada tahun 1980 produksi pisang nasional sebesar 1,98 juta ton dan meningkat menjadi 6.28 juta ton pada tahun 2013 (Direktorat Jenderal Kementerian Pertanian, 2014).

Upaya peningkatan produksi pisang dalam memenuhi kebutuhan dalam dan luar negeri selalu menghadapi kendala atau hambatan terutama dari faktor lingkungan. Masalah lingkungan yang harus dihadapi dalam usaha meningkatkan produksi pisang adalah adanya hambatan oleh organisme pengganggu tanaman (OPT). Salah satu OPT penting yang menyerang tanaman pisang adalah cendawan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) (Semangun, 2000). Hasil penelitian Jumjunidang dkk. (2012) menyebutkan bahwa serangan penyakit layu fusarium ditemukan di Nanggroe Aceh Darussalam, dimana beberapa Kabupaten seperti Aceh Besar, Pidie, Aceh Timur dan Aceh Tamiang terdapat serangan layu fusarium dengan persentase 5 – 70% serta terdapat beberapa kebun yang mengalami puso.

Pengendalian penyakit layu Fusarium yang sering dilakukan oleh petani adalah menggunakan pestisida kimiawi. Pestisida kimiawi yang digunakan secara berlebihan dapat berdampak buruk bagi lingkungan, tanaman dan manusia. Menurut Las dkk. (2006), penggunaan pestisida kimiawi secara berlebihan dapat mengakibatkan peningkatan resistensi dan resurgensi OPT, terganggunya keseimbangan ekosistem, kesehatan manusia dan hewan menjadi terganggu dan tercemarnya produk pertanian dan lingkungan. Oleh sebab itu pengendalian menggunakan pestisida kimia ini kurang dianjurkan.

Salah satu teknik pengendalian alternatif ramah lingkungan yang dapat digunakan untuk mengendalikan serangan patogen Foc yaitu dengan pemanfaatan agen antagonis. *Bacillus subtilis* merupakan salah satu agen antagonis yang dapat digunakan untuk mengendalikan patogen *F. oxysporum*. Hasil penelitian Swain dan

Ray (2009) menunjukkan bahwa *B. subtilis* memiliki aktifitas penghambatan sebesar 25 – 34% terhadap perkembangan *F. oxysporum*. Oleh sebab itu, *B. subtilis* menjadi agens antagonis yang potensial untuk dikembangkan secara massal.

Saat ini, perbanyakan *B. subtilis* banyak dilakukan dengan menggunakan media agar sintetik. Hal tersebut membutuhkan biaya yang banyak apabila media agar sintetik ini akan digunakan sebagai media perbanyakan massal. Oleh sebab itu, perlu dicari bahan-bahan yang berpotensi sebagai media perbanyakan massal *B. subtilis* yang cocok untuk tersedia melimpah, mudah didapatkan dan murah. Menurut Collin dan Lyne (2004), media untuk perbanyakan bakteri secara umum harus mengandung sumber nitrogen, karbon, fosfat, sulfur, vitamin dan bahan yang mampu merangsang pertumbuhan bakteri seperti ragi atau ekstrak daging.

Limbah cair organik merupakan salah satu bahan yang berpotensi untuk digunakan sebagai media perbanyakan *B. subtilis*. Beberapa limbah yang dapat digunakan untuk perbanyakan bakteri antagonis yaitu limbah air kelapa (Khaeruni dkk., 2013), limbah cair tahu (Budiarti, 2008), air cucian kedelai (Putrina dan Fardedi, 2007), dan air cucian beras (Yuniarti dan Blondine, 2007). Selain itu, media kaldu atau rebusan daging dan ikan juga cukup banyak digunakan sebagai media tambahan. Menurut Dwinanti dan Tanbiyaskur (2014), kadar protein kaldu ikan 200 g/L sebanding dengan kadar protein *Tryptic Soy Broth* (TSB) 30 g/L.

Menurut Ratnani (2012), limbah cair tahu mengandung air 99%, abu 0,1%, karbohidrat 0,3%, protein 0,2%, lemak 0,1%, serat kasar 0,2% dan bahan-bahan lainnya. Sedangkan limbah air kelapa mengandung glukosa, sukrosa, inositol, fruktosa, sorbitol, protein, mineral, vitamin B dan vitamin C (Vigliar *et al.*, 2006). Menurut Kalsum dkk. (2011), air cucian beras (air leri) mengandung unsur N, P, K, C, vitamin B1 dan B12. Sedangkan sisa air rendaman kedelai memiliki kandungan karbohidrat, protein, dan lemak (Putrina dan Fardedi, 2007). Senyawa yang terkandung dalam limbah cair tersebut merupakan senyawa yang dibutuhkan bakteri untuk tumbuh.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis ingin mengetahui jenis limbah cair (limbah cair tahu, air kelapa, air cucian beras dan air rendaman kedelai) yang baik untuk perbanyakan massal *B. subtilis*.

1.2 Perumusan Masalah

1. Limbah cair manakah yang paling baik digunakan sebagai media perbanyakan massal *B. subtilis* T1?
2. Bagaimana daya antagonisme *B. subtilis* T1 yang diperbanyak di media limbah cair terhadap patogen *F. oxysporum* f.sp. *cubense* SR?

1.3 Tujuan dan Manfaat

1.3.1 Tujuan

1. Mengetahui jenis limbah cair yang paling baik digunakan sebagai media perbanyakan massal *B. subtilis* T1.
2. Mengetahui daya antagonisme *B. subtilis* T1 yang diperbanyak di media limbah cair terhadap patogen *F. oxysporum* f.sp. *cubense* SR.

1.3.2 Manfaat

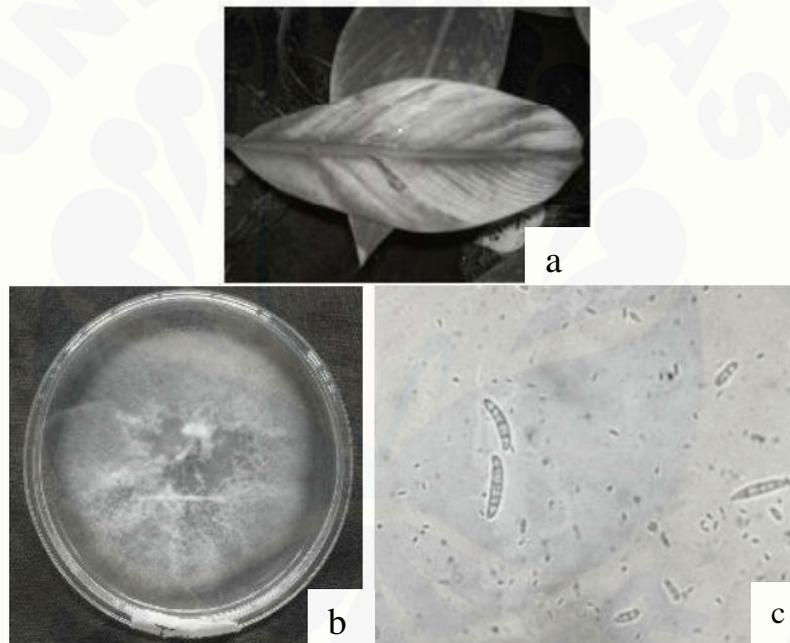
Sebagai sumber informasi bagi para pembaca mengenai pemanfaatan limbah cair sebagai media perbanyakan *B. subtilis* T1.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

1.1 *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*

2.1.1 Karakteristik

Menurut Soesanto dkk. (2012), Genus *Fusarium* adalah salah satu genus cendawan yang sangat penting secara ekonomi dan merupakan spesies patogenik yang menyebabkan penyakit layu pada berbagai tanaman. Klasifikasi cendawan ini yaitu, Divisio Mycota; Sub Divisi Deuteromycotina, Kelas Hyphomycetes, Ordo Hyphales, Famili Tuberculariaceae, Genus *Fusarium*, dan Spesies *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc).



Gambar 1. Gejala serangan *F. oxysporum* f.sp. *cubense* pada daun bibit pisang (a), koloni cendawan (b) dan konidia makro (c) (Soesanto dkk., 2012)

Koloni pada media mencapai diameter 3,5-5,0 cm, miselium tampak jarang atau banyak seperti kapas, kemudian menjadi seperti beludru, berwarna putih dan biasanya agak keunguan yang tampak lebih kuat pada permukaan medium PDA. Cendawan *F. oxysporum* dapat membentuk konidia mikro, konidia makro, dan klamidospora. Konidia mikro bersel satu atau dua, tanpa warna, lonjong atau agak memanjang, dan berukuran $(5-12) \times (2,3-3,5) \mu\text{m}$. Konidia makro berbentuk sabit, bersekat 3-4, berdinding tipis, tanpa warna. Klamidospora bersel satu, jorong atau

bulat, berukuran $(7-13) \times (7-8) \mu\text{m}$, dan terbentuk di tengah hifa atau pada konidia makro, sering kali berpasangan (Soesanto dkk., 2012).

2.1.2 Daur Hidup

Cendawan *F. oxysporum* merupakan cendawan yang mampu bertahan lama dalam tanah sebagai klamidospora. Klamidospora biasanya berada pada jaringan yang membusuk atau di dalam tanah dan akan terangsang berkecambah bila terdapat perakaran tanaman pisang. Setelah berkecambah, miselium akan menghasilkan konidia dalam waktu 6-8 jam, sedangkan klamidospora terbentuk dalam waktu 2-3 hari. Di dalam jaringan pembuluh tanaman, cendawan tumbuh dan masuk ke jaringan parenkim yang berdekatan dan menghasilkan konidia dan klamidospora. Konidia ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang dapat kembali masuk ke dalam tanah ketika jaringan yang terinfeksi mati dan membusuk. Klamidospora ini tetap hidup dan bertahan dalam jangka waktu yang cukup lama di dalam tanah. Siklus penyakit akan berulang bila klamidospora ini berkecambah dan tumbuh kembali baik sebagai saprofit atau menyerang tanaman inang (Soesanto dkk., 2012).

2.1.3 Gejala Serangan

Swastika (2014) menyebutkan bahwa *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) yang menyerang tanaman pisang dapat dilihat dari gejala yang ditimbulkan yaitu daun tanaman yang terserang lebih tua, menguning dan terkulai sehingga hanya daun termuda yang berfungsi. Batang tanaman pisang yang terserang akan mengalami perubahan warna menjadi coklat sampai hitam. Tanaman pisang yang terserang oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) akan menunjukkan gejala pada akar yang menjadi hitam dan busuk, tepi daun bawah berwarna kuning tua yang kemudian menjadi coklat dan mengering.

Sitepu dkk. (2014) memaparkan bahwa gejala yang ditimbulkan oleh tanaman pisang yang terserang oleh *F. oxysporum* f.sp. *cubense* (Foc) dalam penelitiannya yaitu daun bagian bawah menguning dan batang semu pecah. Gejala yang parah dapat ditunjukkan dengan daun terbawah akan patah sebagian dan juga

batang yang dibelah secara melintang dan membujur menampakkan diskolorisasi. Hal serupa juga ditimbulkan oleh buah tanaman pisang yang terserang yaitu apabila dibelah melintang dan membujur akan menunjukkan warna coklat hingga hitam dan busuk.

2.2 *Bacillus subtilis* sebagai Agens Antagonis

2.2.1 Karakteristik

Menurut Khaeruni dkk. (2013), *B. subtilis* merupakan bakteri Gram positif, dapat hidup dalam kondisi aerob atau anaerob dan berbentuk batang. Soesanto (2008) menambahkan bahwa bakteri ini bersel satu, berukuran $0,5-2,5 \times 1,2-10 \mu\text{m}$, dapat membentuk endospora berbentuk elips yang tahan terhadap kering, panas, dan faktor lingkungan lain yang kurang menguntungkan. Bakteri ini merupakan salah satu jenis bakteri yang banyak dikembangkan sebagai agens antagonis untuk mengendalikan patogen tanaman. Berdasarkan hasil penelitian Swain dan Ray (2009), *B. subtilis* strain CM1 mampu menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* sebesar 45% dalam waktu 6 hari.

2.2.2 Ekologi

B. subtilis termasuk dalam bakteri saprofit yang dapat bertahan hidup pada seresah tanaman atau bahan organik (Khaeruni dkk., 2013). Menurut Soesanto (2008), bakteri antagonis ini dapat bertahan hidup pada suhu $-5^{\circ} - 75^{\circ}\text{C}$ dan dengan pH antara 2 - 8. Jika kondisi lingkungan mendukung dengan suhu 40°C , populasi bakteri ini dapat menjadi dua kali banyaknya dalam waktu 28,5 menit. *B. subtilis* memperoleh sumber nutrisi dari eksudat akar dan bahan tanaman mati. Jika kondisi lingkungan tidak sesuai dengan pertumbuhannya seperti tekanan fisik, kimia, suhu tinggi dan defisiensi nutrisi maka bakteri akan membentuk endospora. Pembentukan endospora ini berlangsung selama kurang lebih 8 jam dan mampu bertahan selama 6 tahun.

2.3 Perbanyak Massal Agensia Pengendali Hayati

Menurut Collin dan Lyne (2004), terdapat 11 macro nutrien yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya yaitu C, H, O, N, S, P, K, Na, Ca, Mg, Fe dan beberapa mikro nutrien seperti Mn, Mb, Zn, Cu, Co dan unsur lainnya. Selain itu, dijelaskan lebih lanjut bahwa vitamin kompleks dan pepton merupakan unsur yang dibutuhkan bakteri sebagai perangsang untuk mempercepat pertumbuhannya. Menurut Reddy (2014), media perbanyak massal yang baik harus mampu menghasilkan populasi bakteri sebanyak $2 - 9 \times 10^8$ cfu/ml. Rebah *et al.* (2008) menambahkan bahwa media standar yang akan digunakan untuk perbanyak bakteri setidaknya mengandung pepton 17g/L, ekstrak ragi 5 g/L, glukosa 2 – 5 g/L dan tingkat pH berkisar antara 4 – 7.

2.4 Potensi Pemanfaatan Limbah Cair Organik untuk Media Perbanyak Agensia Pengendali Hayati

2.4.1 Limbah Cair Tahu

Limbah cair tahu berasal dari sisa air tahu yang tidak menggumpal, sisa air perendaman, dan potongan tahu yang hancur. Ciri-ciri limbah cair tahu yaitu memiliki warna kuning sampai putih dan dalam kondisi anaerob dapat berubah menjadi hitam dan berbau busuk yang disebabkan oleh hasil pemecahan karbohidrat dan protein. Menurut Budiarti (2008), dalam 100g limbah cair tahu mengandung 2g karbohidrat, 1,75g protein, 1,25g lemak, 0,001g serat kasar dan 4,5g kalsium. Selain mengandung karbohidrat dan protein, limbah cair tahu juga mengandung pencemar lain yaitu sebagai berikut:

Tabel 1. Kandungan pencemar limbah cair tahu

Nomor Sampel	COD (mg/l)	BOD (mg/l)	N-Total (mg/l)	P-Total (mg/l)	pH
1	7250	5643	169,5	3,94	3,94
2	6870	5395	153,4	4,28	4,28
Rata-rata	7050	5389,5	161,5	4,11	4,11

Sumber: Damayanti dkk. (2004)

Limbah cair tahu juga mengandung bahan organik yang cukup tinggi yaitu berkisar 70% (Faridatuzzahro dkk., 2015). Menurut Jenie dalam Ratnani (2012),

limbah cair tahu memiliki kandungan zat organik yang mampu memicu pertumbuhan mikroba dalam air. Hasil penelitian Budiarti (2008) menunjukkan bahwa limbah cair tahu dapat digunakan sebagai media starter untuk perbanyakan *Acetobacter xylinum* (bakteri yang digunakan dalam pembuatan *Nata de Soya*).

2.4.2 Limbah Air Kelapa

Menurut Yolanda dan Mulyana (2011), air kelapa tersedia cukup melimpah di Indonesia, tetapi masih belum banyak dimanfaatkan terutama air kelapa tua. Vigliar *et al.* (2006) menyatakan bahwa air kelapa merupakan campuran dari endosperm yang terdapat dalam buah kelapa, yang mulai terbentuk sekitar 2 bulan setelah buah berkembang. Air kelapa mengandung 95% air, 4% karbohidrat, 0,1% lemak, 0,02% kalsium, 0,01% fosfor, 0,5% besi, glukosa, sukrosa, fruktosa, asam amino, beberapa jenis enzim, vitamin C, vitamin B kompleks dan garam-garam mineral seperti kalsium, kalium, magnesium, klorida, dan natrium. Menurut Tekpan (2006), terdapat perbedaan konsentrasi kandungan senyawa antara air kelapa muda dan kelapa tua. Berikut perbedaan konsentrasi senyawanya:

Tabel 2. Konsentrasi senyawa dalam air kelapa muda dan kelapa tua

Komponen	Kelapa Muda (%)	Kelapa Tua (%)
Air	95,01	91,23
Protein	0,13	0,29
Lemak	0,12	0,15
Karbohidrat	0,11	7,27
Abu	0,63	1,06

Sumber: Tekpan (2006).

Nutrisi yang terdapat di dalam air kelapa cukup lengkap, sehingga berpotensi untuk digunakan sebagai media perbanyakan *B. subtilis*. Hasil penelitian Khaeruni dkk. (2013) menunjukkan bahwa penggunaan air kelapa 25% - 50% memperlihatkan jumlah koloni *B. subtilis* ST21e tertinggi tanpa menurunkan aktivitas antagonisme secara drastis selama masa penyimpanan 8 minggu.

2.4.3 Limbah Air Cucian Beras

Air cucian beras merupakan limbah rumah tangga yang dihasilkan dari bekas pencucian beras. Limbah ini masih belum banyak dimanfaatkan dan dibuang begitu saja ke lingkungan, akibatnya menyebabkan pencemaran. Padahal limbah air cucian beras ini memiliki kandungan yang baik untuk dimanfaatkan sebagai media perbanyakan bakteri bermanfaat seperti *B. subtilis*. Menurut Yuniarti dan Blondine (2007), air cucian beras khususnya beras mentik dapat digunakan sebagai media perbanyakan *B. thuringiensis* H-14 galur lokal karena mengandung protein 0,02%, lemak 0,01%, karbohidrat 0,12%, Ca 42,22 mg/l, Fe 0,11 mg/l dan Mg 35,39 mg/l. Hasil penelitian Kalsum dkk. (2011) juga menunjukkan bahwa pemberian air cucian beras sebanyak 40 ml memberikan hasil pertumbuhan terbaik pada cendawan tiram putih (*Pleurotus ostreatus*).

2.4.4 Limbah Air Rendaman Kedelai

Air rendaman kedelai merupakan limbah pada pembuatan tempe yang belum termanfaatkan. Menurut D'souza (2013), rendaman air kedelai mengandung protein, lemak, dan karbohidrat. Kandungan yang terdapat dalam air rendaman kedelai ini dapat dimanfaatkan sebagai media perbanyakan bakteri. Sedangkan hasil penelitian Putra dkk. (2012) menunjukkan bahwa penggunaan air rendaman kedelai dengan konsentrasi 20% dan lama inkubasi 48 jam memberikan hasil terbaik dalam penggunaannya sebagai media perbanyakan bakteri *Pseudomonas* sp.

2.4.5 Kaldu Tulang Ikan

Tulang ikan merupakan salah satu limbah yang banyak terdapat di pelelangan ikan, pasar ikan, dan juga termasuk dalam limbah rumah tangga. Tulang ikan ini mengandung protein dan senyawa-senyawa lain yang dapat digunakan untuk bahan tambahan dalam pembuatan media perbanyakan bakteri. Rebah *et al.* (2008) menyatakan bahwa limbah ikan dapat dimanfaatkan sebagai media perbanyakan bakteri karena mengandung protein, lipid dan kitin. Menurut Dwinanti dan Tanbiyaskur (2014), air rebusan tulang ikan, jeroan, dan daging ikan (kaldu) mengandung pepton atau protein terhidrolisis yang terdiri dari senyawa nitrogen

sederhana. Senyawa ini merupakan salah satu senyawa yang dibutuhkan bakteri untuk pertumbuhannya. Berdasarkan hasil penelitiannya juga diketahui bahwa penggunaan agar rumah tangga yang diperkaya kaldu ikan dengan konsentrasi 200 g/L mampu menumbuhkan bakteri *Aeromonas hydrophila* dengan populasi bakteri yang hampir sama dengan media yang menggunakan TSA (*Tryptic Soy Agar*).

2.5 Hipotesis

1. Limbah air kelapa adalah media terbaik untuk perbanyak *B. subtilis* T1.
2. *B. subtilis* T1 yang diperbanyak pada media limbah dapat menghambat pertumbuhan *F. oxysporum* f.sp. *ubense* SR.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari - Juni 2016 yang bertempat di Laboratorium Penyakit Tumbuhan Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Jember.

3.2 Rancangan Percobaan

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah percobaan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan dengan 4 ulangan. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu:

L1 : kontrol (aquades 75 ml + kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml)

L2 : limbah cair tahu 75 ml + kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml

L3 : limbah air kelapa 75 ml + kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml

L4 : limbah cucian beras 75 ml + kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml

L5 : limbah air rendaman kedelai 75 ml + kaldu tulang ikan 20 ml + molase 5 ml

Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (anova).

Apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%.

3.3 Pelaksanaan Penelitian

3.3.1 Isolasi *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*

Sampel *F. oxysporum* diambil dari Desa Sukosari, Kecamatan Tamanan, Kabupaten Bondowoso menurut metode Vicente *et. al.* (2014). Patogen *F. oxysporum* di isolasi dari tanaman pisang yang menunjukkan gejala terserang penyakit layu Fusarium dengan cara memotong secara bagian batang bawah tanaman pisang, kemudian mengambil pembuluh batang semu yang mengalami perubahan warna menjadi coklat atau hitam. Setelah itu melakukan sterilisasi permukaan potongan pembuluh tersebut menggunakan alkohol 70%. Setelah itu sampel diletakkan pada *blotting paper* atau tisu steril dan diinkubasi selama beberapa hari sampai kering angin. Kemudian sampel batang semu dipotong sepanjang 3-6 mm dan diletakkan pada media $\frac{1}{4}$ PDA padat dan diinkubasi selama

2-4 hari. Mengamati secara mikroskopis cendawan yang tumbuh, mencocokkannya dengan ciri-ciri miselium dan konidia mikro *F. oxysporum* sesuai literatur dan mengisolasi kembali cendawan yang sesuai ciri-cirinya untuk mendapatkan biakan murni.

3.3.2 Peremajaan *Bacillus subtilis* T1

Isolat *B. subtilis* T1 (koleksi Laboratorium Pengendalian Hayati, Tanggul Jember) diremajakan dengan cara diambil sebanyak satu ose *B. subtilis* T1 dari kultur stok, kemudian digoreskan pada cawan petri berisi media NA padat secara aseptik dan diinkubasikan pada suhu ruang selama 24 jam. Kemudian diambil satu ose bakteri yang tumbuh ke dalam 20 ml media *Nutrient Broth* dan diinkubasikan menggunakan shaker selama 13 jam dengan kecepatan 100 rpm.

3.3.3 Uji Daya Hambat *Bacillus subtilis* T1 sebelum diperbanyak

B. subtilis T1 yang telah diremajakan, dititikkan di 3 tempat berbeda dengan menggunakan tusuk gigi steril dengan jarak 2 cm dari tepi cawan petri. Cendawan *F. oxysporum* diinokulasikan dengan cara diletakkan pada bagian tengah cawan petri yang berisi media PDA padat, dan diinkubasikan selama 7 hari. Pengukuran daya hambat bakteri terhadap pertumbuhan cendawan *F. oxysporum* dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Daya hambat} = \frac{R1-R2}{R1} \times 100\%$$

Keterangan: R1 : jari-jari cendawan yang menjauhi agen hayati
R2 : jari-jari cendawan yang mendekati agen hayati

3.3.4 Pembuatan Media Perbanyakan

Media yang digunakan dalam penelitian ini, yaitu limbah cair tahu, air kelapa, air cucian beras, air rendaman kedelai sebagai bahan dasar media perbanyakan dan campuran kaldu tulang ikan + molase. Pembuatan kaldu tulang ikan dilakukan dengan cara merebus sebanyak 200 g tulang ikan mas dengan menggunakan aquades sebanyak 1 liter selama 45 menit. Kemudian air rebusan disaring untuk memisahkan endapan tulang ikan yang hancur saat proses perebusan.

Kaldu tulang ikan digunakan untuk memperkaya kandungan protein dalam media limbah yang akan digunakan. Selanjutnya, masing-masing limbah cair yang akan digunakan disaring menggunakan kertas saring. Kemudian dituangkan ke dalam erlenmeyer sebanyak 75 ml + kaldu tulang ikan sebanyak 20 ml + molase 5 ml dan dihomogenkan. Kemudian pH diatur agar mendekati kondisi netral setelah itu disterilkan menggunakan autoklaf. Limbah cair tahu didapat dari tempat pembuangan limbah cair di pabrik pengolahan tahu. Limbah air kelapa didapat dari kelapa tua yang berumur kurang lebih 10 bulan. Limbah air rendaman kedelai didapat dari 1 kg kedelai yang direndam dengan 1 liter aquades selama 1 hari, dan limbah air cucian beras didapat dari 1 kg beras mentik dicuci menggunakan 500 ml aquades. Sedangkan untuk perlakuan kontrol menggunakan 75 ml aquades + 20 ml kaldu ikan + 5 ml molase, dihomogenkan dan disterilkan dengan suhu 121°C selama 15 menit.

Penyimpanan media limbah ini dilakukan dengan menuangkan kedalam botol berisi 25 ml/media. Kemudian *B. subtilis* T1 diinokulasikan ke dalam masing-masing media dengan perbandingan 0.25 : 25 ml dan dilakukan pengamatan terhadap populasi bakteri dan uji daya hambat setiap 2 minggu. Apabila populasi *B. subtilis* pada perhitungan populasi berada di bawah 10^8 cfu/ml maka pengamatan akan dihentikan. Karena jika populasi bakteri kurang dari 10^8 cfu/ml maka tidak efektif diaplikasikan di lapang untuk mengendalikan patogen yang menyerang tanaman.

3.3.5 Perhitungan Populasi dan Uji Daya Hambat *Bacillus subtilis* T1 setelah Diperbanyak di Media Limbah

Perhitungan populasi *B. subtilis* T1 dalam media limbah dilakukan dengan cara sebanyak 1 ml *B. subtilis* T1 yang diperbanyak dalam media limbah dituangkan ke dalam 9 ml aquades steril kemudian di vortex hingga homogen maka diperoleh pengenceran 10^{-1} , metode yang sama digunakan untuk memperoleh serial pengenceran berikutnya. Dari hasil serial pengenceran diambil sebanyak 0,1 ml suspensi *B. subtilis* T1 dan dituangkan ke dalam media NA padat. Diinkubasikan

selama 24 jam dan dihitung jumlah koloni yang tumbuh, kemudian dikonversikan ke bentuk cfu/ml dengan menggunakan rumus:

$$\Sigma \text{Populasi} = \frac{\text{Jumlah koloni pada pengenceran ke-}}{\text{faktor pengenceran} \times \text{volume suspensi yang disebar (ml)}}$$

Sedangkan untuk perhitungan kemampuan daya hambat *B. subtilis* T1 terhadap pertumbuhan *F. oxysporum* dilakukan dengan menggunakan metode yang sama seperti sebelum diperbanyak di media limbah.



BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Lima jenis media cair dapat digunakan untuk perbanyak *B. subtilis* T1 dan media air kelapa adalah yang terbaik.
2. Media perbanyak tidak mempengaruhi kemampuan *B. subtilis* T1 dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* SR.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, saran yang dapat diberikan yaitu sebaiknya menggunakan limbah yang masih segar atau baru dihasilkan dari sisa produksi untuk menghindari terjadinya proses pembusukan awal oleh mikroorganisme pengurai yang menyebabkan terjadinya perubahan kandungan nutrisi pada media limbah.

DAFTAR PUSTAKA

- Budiarti, R. S. 2008. Pengaruh konsentrasi starter *Acetobacter xylinum* terhadap ketebalan dan rendemen selulosa *Nata de Soya*. *Biospecies* 1(1): 19-24.
- Collin, C. H. dan P. M. Lyne. 2004. *Microbiological Method, Eighth Edition*. London: Arnold.
- Damayanti, A., J. Hermana, dan A. Masduqi. 2004. Analisis resiko lingkungan dari pengolahan limbah pabrik tahu dengan kayu apu (*Pistia stratiotes* L.). *Purifikasi* 5(4): 151-156.
- Direktorat Jenderal Kementerian Pertanian. 2014. *Outlook Komoditi Pisang*. Jakarta: Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian.
- D'souza, M. R. 2013. Effect of traditional processing methods on nutritional quality of field bean. *Advances in Bioresearch* 4(3): 29-33.
- Dwinanti, S. H. dan Tanbiyaskur. 2014. Rekayasa media padat nonselektif untuk bakteri akuatik. *Akuakultur Indonesia* 13(2): 163-166.
- Faridatuzzahro, L., S. M. R. Sedyawati dan N. Widiarti. 2015. Penurunan nilai BOD COD limbah tahu menggunakan tanaman *Cyperus papyrus* sistem *Wetland*. *Indo. J. Chem. Sci.* 4(1): 75-79.
- Faturrahman. 2001. Kemampuan *Bacillus subtilis* GB03 yang diberi sumber karbon alami yang berbeda dalam menghambat pertumbuhan *Fusarium oxysporum*. *J. Pen. Unram*, 2(12): 1-10
- Giyanto dan Tondok, E. T. 2009. Kajian pemanfaatan limbah organik cair untuk pembiakan masal agens antagonis *Pseudomonas fluorescens* serta Uji Potensinya sebagai Bio – Pestisida. *Ilmu Pertanian Indonesia* 14(2): 97-107.
- Jumjunidang, Edison, Riska, dan C. Hermanto. 2012. Penyakit layu *Fusarium* pada tanaman pisang di Provinsi NAD: sebaran dan identifikasi isolat berdasarkan analisis *Vegetative Compatibility Group*. *J. Hort.* 22(2): 164-171.
- Kalsum, U., S. Fatimah, dan C. Wasonowati. 2011. Efektivitas pemberian air leri terhadap pertumbuhan dan hasil cendawan tiram putih. *Agrovigor* 4(2): 86-92.
- Khaeruni, A., Asrianti, dan A. Rahman. 2013. Efektivitas limbah cair pertanian sebagai media perbanyakan dan formulasi *Bacillus subtilis* sebagai agens hayati patogen tanaman. *Agroteknos* 3(3): 144-151.

- Las, I. K. Subagyo dan A. P. Setiyanto. 2006. Isu dan pengelolaan lingkungan dalam revitalisasi pertanian. *Litbang Pertanian* 25(3): 106-115.
- Mayanti, B. dan D. Ariesyadi. 2009. Identifikasi keberagaman bakteri pada *Commercial Seed* pengolah limbah cair cat. <http://www.docdatabase.net/more-identifikasi-keberagaman-bakteri-pada-commercial--1005702.html> [diakses pada 12 Juni 2016]
- Muis, A. 2006. Biomass production and formulation of *Bacillus subtilis* for biological control. *Indonesian Journal of Agricultural Science* 7(2): 51-56.
- Putra, R. R., M. C. Padaga, D. K. Wuragil. 2012. Pengaruh Penggunaan Biosurfaktan Asal *Pseudomonas* sp. dengan Media Tumbuh Air Rendaman Kedelai terhadap Kadar *Total Suspended Solid* (TSS) dan Lemak pada Bioremediasi Limbah Cair Rumah Potong Ayam (RPA). <http://pkh.ub.ac.id/wp-content/uploads/2012/10/0911310058-Reza-Rusandy-Putra.pdf> [diakses pada 9 Desember 2015]
- Putrina, M. dan Fardedi. 2007. Pemanfaatan air kelapa dan air rendaman kedelai sebagai media perbanyakan bakteri *Bacillus thuringiensis* Barliner. *Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia* 9(1): 64-70.
- Ratnani, R. D. 2012. Kemampuan kombinasi eceng gondok dan lumpur aktif untuk menurunkan pencemaran pada limbah cair industri tahu. *Momentum* 8(1): 1-5.
- Rebah, F. B., F. Frikha, W. Kamoun, L. Belbahri, Y. Gargouri dan N. Miled. 2008. Culture of *Staphylococcus xylosus* in fish processing by-product-based media for lipase production. *Applied Microbiology* 47: 549-554.
- Reddy, P. P. 2014. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria for Horticultural Crop Protection*. India: Springer.
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Sitepu, F. E., Lisnawita dan M. I. Pinem. 2014. Penyakit layu Fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *Cubense* (E.F.Smith) Synd. & Hans.) pada tanaman pisang (*Musa* spp.) dan hubungannya dengan keberadaan nematoda *Radopholus similis* di lapangan. *Online Agroteknologi* 2(3): 1204-1211.
- Soesanto, L. 2008. *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.

- Soesanto, L., E. Mugiastuti, F. Ahmad, dan Witjaksono. 2012. Diagnosis lima penyakit utama karena cendawan pada 100 kultivar bibit pisang. *J. HPT Tropika* 12(1): 36-45.
- Swain, M. R. dan R. C. Ray. 2009. Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cowdung microflora. *Microbiological Research*, 164: 121-130.
- Swastika, I. W. 2014. *Identifikasi dan Pengendalian Penyakit Layu Pada Pisang di Kota Denpasar*. Dinas Pertanian Tanaman Pangan dan Hortikultura Kota Denpasar.
- Tekpan. 2006. Aneka Hasil Olahan Kelapa. <http://tekpan.unimus.ac.id/wp-content/uploads/2013/07/ANEKA-HASIL-OLAHAN-KELAPA.pdf> [diakses pada 9 Desember 2015]
- Todar, K. 2005. 2005. Todar's Online Textbook of Bacteriology. University of Wisconsin Madison Department of Bacteriology. <http://textbookofbacteriology.net>. [diakses pada 12 Juni 2016]
- Vigliar, R., V. L. Sdepanian, dan U. F. Neto. 2006. Biochemical profile of coconut water from coconut palms planted in an inland region. *De Pediatría* 82(4): 308-312.
- Vicente, L. P., M. A. Dita, dan E. M. de la Parte. 2014. *Technical Manual Prevention and diagnostic of Fusarium Wilt (Panama disease) of banana caused by Fusarium oxysporum f. sp. cubense Tropical Race 4 (TR4)*. Food And Agriculture Organization Of The United Nations: Sao Paolo.
- Yolanda, H. dan Y. Mulyana. 2011. Uji coba penggunaan limbah air kelapa tua sebagai bahan dasar media isolasi. *Majalah Kedokteran Bandung* 43(3): 117-121.
- Yuniarti, R. A. dan Blondine Ch. P. 2007. Pengembangbiakan *Bacillus thuringiensis* H-14 galur lokal menggunakan media air cucian beras dan patogenisitasnya terhadap jentik *Culex quinquefasciatus*. *Media Litbang Kesehatan* 17(4): 14-20.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Analisis Ragam Populasi dan Daya Hambat *Bacillus subtilis* T1Tabel 1.1 Jumlah koloni *B. subtilis* T1 pada media limbah

Perlakuan	Rata-rata jumlah koloni (cfu/mL) <i>B. subtilis</i> T1 pada penyimpanan minggu ke-			
	2	4	6	8
(L1)Kontrol	6.5×10^9	4.7×10^9	4.8×10^8	9.2×10^6
(L2)Limbah Tahu	5.6×10^9	3.5×10^9	6.7×10^8	1.0×10^7
(L3)Air Kelapa	1.5×10^{10}	7.9×10^9	1.5×10^9	2.2×10^7
(L4)Air Leri	6.8×10^9	4.1×10^9	6.8×10^8	9.9×10^6
(L5)Air Kedelai	9.4×10^9	5.1×10^9	1.1×10^9	1.4×10^6

Tabel 1.2 ANOVA populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-2

FK = 151728.2

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	25021.3	6255.325	66.8066	**	3.25	4.50
Galat	15	1404.5	93.63333				
Total	19	26425.8					

CV = 11.11

Tabel 1.3 ANOVA populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-4

FK = 51409.80

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	4676.70	1169.17	14.10	**	3.25	4.50
Galat	15	1243.50	82.90				
Total	19	5920.20					

CV = 17.96

Tabel 1.4 ANOVA populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-6

FK = 160921.80

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	27836.2	6959.05	32.76	**	3.25	4.50
Galat	15	3186	212.4				
Total	19	31022.2					

CV = 16.25

Tabel 1.5 ANOVA populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-8

FK = 339040.80

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	46877.70	11719.43	35.45	**	3.25	4.50
Galat	15	4959.50	330.63				
Total	19	51837.20					

CV = 13.97

Tabel 1.6 ANOVA daya hambat *B. subtilis* T1 pada minggu ke-2

FK = 107604.45

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	124.30	31.08	2.53	tn	3,25	4,50
Galat	15	184.25	12.28				
Total	19	308.55					

CV = 4.78

Tabel 1.7 ANOVA daya hambat *B. subtilis* T1 pada minggu ke-4

FK = 99687.20

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	7.30	1.83	0.42	ns	3.25	4.50
Galat	15	65.50	4.37				
Total	19	72.80					

CV = 2.96

Tabel 1.8 ANOVA daya hambat *B. subtilis* T1 pada minggu ke-6

FK = 100394.45

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	43.3	10.825	1.256286	ns	3.25	4.50
Galat	15	129.25	8.616667				
Total	19	172.55					

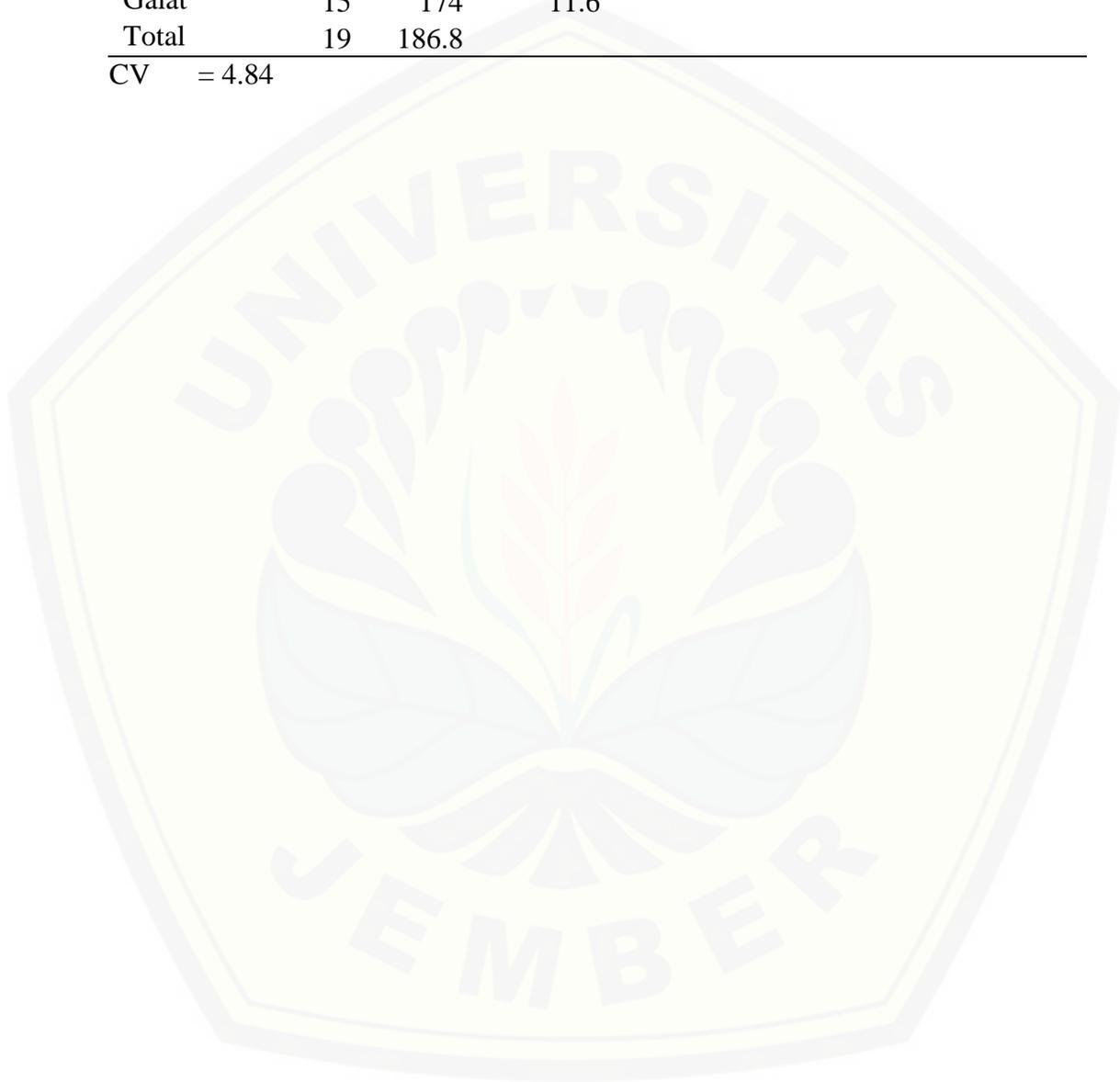
CV = 4.14

Tabel 1.9 ANOVA daya hambat *B. subtilis* T1 pada minggu ke-8

FK = 99123.20

SK	DB	JK	KT	F Hitung	Notasi	F Tabel	
						0.5	0.1
Perlakuan	4	12.8	3.2	0.275862	ns	3.25	4.50
Galat	15	174	11.6				
Total	19	186.8					

CV = 4.84



Lampiran 2. Uji DMRT Populasi *Bacillus subtilis* T1Tabel 2.1 Uji Duncan populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-2

Perlakuan	Rerata	153	94.25	67.75	65	55.5	notasi
L3	153	0					a
L5	94.25	58.75	0				b
L1	67.75	85.25	26.5	0			c
L2	65	88	29.25	2.75	0		c
L4	55.5	97.5	38.75	12.25	9.5	0	c
P			5	4	3	2	
SSR 5%			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJD 5%			16.01	15.72	15.29	14.56	
KTG	93.63						

Tabel 2.2 Uji Duncan populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-4

perlakuan	Rerata	79.25	51.5	46.5	41.25	35	notasi
L3	79.25	0					a
L5	51.5	27.75	0				b
L1	46.5	32.75	5	0			bc
L4	41.25	38	10.25	5.25	0		bc
L2	35	44.25	16.5	11.5	6.25	0	c
P			5	4	3	2	
SSR 5%			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJD 5%			15.07	14.80	14.39	13.70	
KTG	82.9						

Tabel 2.3 Uji Duncan populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-6

Perlakuan	Rerata	151.25	112.75	68.25	67.75	48.50	notasi
L3	151.25	0					a
L5	112.75	38.50	0				b
L4	68.25	83	44.50	0			c
L2	67.75	83.50	45	0.50	0		c
L1	48.50	102.75	64.25	19.75	19.25	0	c
P			5	4	3	2	
SSR			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJD 5%			24.12	23.68	23.03	21.93	
KTG	212.4						

Tabel 2.4 Uji Duncan populasi *B. subtilis* T1 pada minggu ke-8

Perlakuan	Rerata	221.50	138	100.75	99.25	91.50	notasi
L3	221.50	0					a
L5	138	83.50	0				b
L2	100.75	120.75	37.25	0			c
L4	99.25	122.25	38.75	1.50	0		c
L1	91.50	130	46.50	9.25	7.75	0	c
P			5	4	3	2	
SSR			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJD 5%			30.09	29.55	28.73	27.37	
KTG	330.63						

Lampiran 3. Dokumentasi Penelitian



Media limbah yang digunakan



Pengukuran pH media limbah



Proses shaker *B. subtilis* T1



Penyimpanan media limbah