

**KAJIAN PERBANYAKAN PSEUDOMONAS PNDARFLUOR PF TMT 27  
PADA MEDIA DASAR LIMBAH CAIR TAHU DIPERKAYA DAN  
POTENSI ANTAGONISMENYA DALAM MENGHAMBAT  
*PHYTOPHTHORA NICOTIANAE***

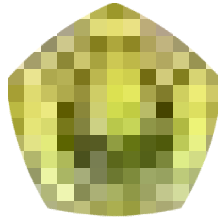
**SKRIPSI**

Oleh

**Imam Rofiq Abdillah**

**121510501134**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**



**KAJIAN PERBANYAKAN PSEUDOMONAS PNDARFLUOR PF TMT 27  
PADA MEDIA DASAR LIMBAH CAIR TAHU DIPERKAYA DAN  
POTENSI ANTAGONISMENYA DALAM MENGHAMBAT  
*PHYTOPHTHORA NICOTIANAE***

**SKRIPSI**

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Agroteknologi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Pertanian

Oleh

**Imam Rofiq Abdillah**

**121510501134**

**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI  
FAKULTAS PERTANIAN  
UNIVERSITAS JEMBER  
2017**

## PERSEMBAHAN

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

1. Ibunda Endang Kiswati dan bapak Anas, saya haturkan terima kasih atas segala pengorbanan, kasih sayang serta do'a yang selalu dipanjatkan yang tidak mungkin dapat terbalas dengan apapun;
2. Semua guru-guru sejak Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi yang telah mendidik dengan ilmunya dan menuntun saya dengan sabar;
3. Semua teman-teman yang telah membantu saya dalam menyelesaikan tugas akhir ini.
4. Almamater Fakultas Pertanian Universitas Jember.

**MOTTO**

*“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantara kamu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat”*  
(Q.S al-Mujadalah: 11)

*“Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan”*  
(Q.S. Al Insyirah: 6)

*“Dan boleh jadi kamu membenci sesuatu tetapi ia baik bagimu, dan boleh jadi kamu menyukai sesuatu tetapi ia buruk bagimu, dan Allah mengetahui dan kamu tidak mengetahui”*  
(Al Baqarah: 216)

*“Dan bahwasanya seorang manusia tiada memperoleh selain apa yang telah diusahakannya”*  
(Al An Najm: 39)

**PERNYATAAN**

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Imam Rofiq Abdillah

NIM : 121510501134

Menyatakan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah yang berjudul: **“Kajian Perbanyakan Pseudomonas Pendarfluor PF TMT 27 pada Media Dasar Limbah Cair Tahu Diperkaya dan Potensi Antagonismenya dalam Menghambat *Phytophthora nicotianae*”** 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 pada kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 18 Desember 2017

Yang menyatakan

Imam Rofiq Abdillah

NIM 121510501134

**SKRIPSI**

**KAJIAN PERBANYAKAN PSEUDOMONAS PNDARFLUOR PF TMT 27  
PADA MEDIA DASAR LIMBAH CAIR TAHU DIPERKAYA DAN  
POTENSI ANTAGONISMENYADALAM MENGHAMBAT  
*PHYTOPHTHORA NICOTIANAE***

Oleh

**Imam Rofiq Abdillah**

**121510501134**

**Pembimbing**

Pembimbing Utama : Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyani. S.P., M.Sc.  
NIP. 197303252003122002

Pembimbing Anggota : Ir. Abdul Majid, MP  
NIP. 196709061992031004

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Kajian Perbanyakkan Pseudomonas Pendarfluor PF TMT 27 pada Media Dasar Limbah Cair Tahu Diperkaya dan Potensi Antagonismenya dalam Menghambat *Phytophthora nicotianae***” telah diuji dan disahkan pada:

Hari : Senin  
Tanggal : 18 Desember 2017  
Tempat : Fakultas Pertanian Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

**Dr. Suhartiningsih Dwi Nurcahyani, S.P., M.Sc.**  
NIP. 197303252003122002

**Ir. Abdul Majid, MP**  
NIP. 196709061992031004

Dosen Penguji I

Dosen Penguji II,

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

**Hardian Susilo Addy, SP., MP. Ph.D.**  
NIP. 198011092005011001

Mengesahkan,  
Dekan,

**Ir. Sigit Soeparjono, MS., Ph.D**  
NIP. 19600506 198702 1 001

## RINGKASAN

**Kajian Perbanyakkan *Pseudomonas* Pendarfluor PF TMT 27 pada Media Dasar Limbah Cair Tahu Diperkaya dan Potensi Antagonismenya dalam Menghambat *Phytophthora nicotianae*.** Imam Rofiq Abdillah, 121510501134; Program Studi Agroteknologi; Fakultas Pertanian; Universitas Jember.

Pemanfaatan agen hayati dalam mengendalikan patogen tanaman telah banyak mendapatkan perhatian peneliti dibidang pertanian. Hal tersebut sebagai upaya untuk mengurangi penggunaan bahan kimia dalam mengendalikan penyakit tanaman. Agen hayati telah banyak diteliti kemampuannya dalam mengendalikan penyakit tanaman salah satunya adalah bakteri *Pseudomonas* pendarfluor. *Pseudomonas* pendarfluor diketahui telah mendapat perhatian diseluruh dunia berkaitan dengan produksi beberapa senyawa *antifungal* misalnya; pigmen pendar, siderofor, senyawa volatil seperti asam hidrosianida (HCN), antibiotik dan enzim litik.

Penerapan aplikasi agen hayati *Pseudomonas* pendarfluor di lapang pada saat ini menghadapi kendala keterbatasan ketersediaan paket teknologi untuk pembiakan masal yang murah, hal tersebut dikarenakan menyediakan agen pengendali hayati relatif mahal apabila dibiakkan pada medium standar laboratorium. Salah satu media yang berpotensi sebagai alternatif media biakan bakteri adalah limbah pengolahan tahu, dimana ketersediaannya sangat melimpah, tidak memiliki nilai ekonomi serta tidak termanfaatkan. Komposisi limbah cair tahu per 100 g terdiri atas 2.7 g lemak, 0.5 g karbohidrat, 1.9 g mineral, 4.3 g kalsium, 19 mg fosfor, dan 29 mg besi. Kandungan tersebut memungkinkan limbah cair pengolahan tahu untuk dijadikan sebagai media biakan agen hayati *Pseudomonas* pendarfluor.

Hasil pembiakan *Pseudomonas* pendarfluor dengan media limbah cair tahu dapat menjadi alternatif yang ekonomis bagi petani untuk mengendalikan penyakit tanaman, salah satu penyakit tanaman yang mengakibatkan kerusakan tanaman adalah penyakit lanas pada tanaman tembakau yang diakibatkan oleh cendawan *Phytophthora nicotianae*. Penyakit lanas yang disebabkan oleh



endawan patogen *P. nicotianae* merupakan penyakit yang mematikan pada tanaman tembakau mulai pembibitan sampai tanaman dewasa dari umur 35 hst sampai 105 hst dengan tingkat kerusakan rata-rata 4.88 % - 63.96 %.

Tahap Persiapan penelitian antara lain Isolasi jamur *Phytophthora nicotianae* yang berasal dari pertanaman tembakau Jember pada tahun 2015, perbanyak cendawan patogen *P. nicotianae* yang akan digunakan untuk pengujian daya hambat, Isolasi bakteri *Pseudomonas* pendarfluor yang berasal dari tanaman tomat dari pertanaman tomat Jember tahun 2016, Uji antagonis *Pseudomonas* pendarfluor terhadap *P. nicotianae* untuk menentukan isolat *Pseudomonas* pendarfluor yang akan digunakan dalam penelitian, Persiapan Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 dengan tujuan memperbanyak bakteri untuk dibiakkan pada media limbah yang telah disiapkan. Tahap perbanyak bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada Limbah Cair Tahu dilakukan dengan persiapan limbah cair tahu, memperkaya limbah cair tahu dengan menggunakan berbagai bahan yang akan digunakan sebagai perlakuan dalam penelitian ini, dan Inokulasi bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada media biakan yang telah disiapkan. Parameter pengamatan yang dilakukan adalah Uji Kemampuan Hidup Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada Berbagai Media Limbah Cair Tahu Termodifikasi dengan menggunakan rumus:  $\Sigma \text{Populasi} = \text{Jumlah koloni pada pengenceran ke-} / \text{Faktor pengenceran} \times \text{volume suspensi yang disebar (ml)}$ , Uji Daya Hambat *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 Terhadap *P. nicotianae* secara *in vitro* dengan rumus :  $\text{Luas koloni kontrol} - \text{Luas koloni perlakuan} / \text{Luas koloni kontrol} \times 100\%$ . Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan uji pertumbuhan *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada media limbah cair tahu terdiri dari 5 perlakuan masing – masing terdapat 4 kali ulangan sehingga terdapat 20 unit percobaan. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (anova). Apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%.

Hasil penelitian dengan parameter jumlah koloni bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PfTMT 27 menunjukkan pada Minggu ke 3 pengamatan memiliki

rerata jumlah koloni tertinggi selama 11 minggu pengamatan pada semua perlakuan dengan tingkat kerapatan bakteri semua perlakuan diatas menunjukkan rerata jumlah koloni 20 log CFU/ml. Tingginya populasi bakteri pada minggu ke 3 pengamatan disebabkan limbah cair yang dihasilkan oleh industri tahu merupakan limbah organik yang mudah diuraikan oleh mikroorganisme secara alamiah sehingga mengakibatkan waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri menjadi relatif cepat, selain itu tingginya populasi bakteri pada minggu tersebut diakibatkan bakteri mengurangi ukuran sel sebagai respon terhadap tekanan lingkungan. Selama 11 minggu pengamatan populasi bakteri mengalami fluktuasi yang tidak stabil, hal tersebut dikarenakan tidak adanya bahan pembawa yang mampu menjaga kondisi lingkungan hidup bakteri. Hasil pengamatan minggu ke 11 pengamatan semua perlakuan mengalami penurunan populasi bakteri terendah dengan rerata jumlah koloni tertinggi terjadi pada perlakuan penambahan udang kering dengan kerapatan bakteri 7.95 log CFU/ml, hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan ekstrak keong mas 10% dan gula pasir 1,5% yang memiliki rerata jumlah koloni 7.73 log CFU/ml dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan terendah pada pengamatan minggu 11 adalah media limbah cair tahu tanpa penambahan gula pasir dan sumber protein dengan kerapatan bakteri 5.58 log CFU/ml, tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan usus ayam yang memiliki rerata jumlah koloni 5.93 log CFU/ml dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Hasil pengamatan daya antagonisme menunjukkan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 mampu menghambat perkembangan cendawan patogen *P. nicotianae* hingga minggu ke 11 dengan presentase yang berbeda. Pengamatan pada minggu ke 1 dan 3 menghasilkan daya hambat tertinggi dari semua perlakuan yang diuji, diduga pada minggu tersebut yang memiliki rerata jumlah koloni *Pseudomonas* pendarfluor tinggi menghasilkan senyawa metabolisme sekunder yang banyak. Perlakuan yang memiliki daya hambat stabil diatas 48.85% dari minggu 1 hingga ke 11 adalah perlakuan formulasi media dengan penambahan sumber usus ayam 10% dan gula pasir 1.5%.

Media perbanyak dari limbah cair tahu yang telah diperkaya dengan penambahan sumber protein usus ayam 10% dan gula pasir menampakakan hasil berupa pigmen pendar setelah diinokulasi bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Produksi pigmen biru kehijauan dan hijau kekuningan berbanding lurus dengan produksi senyawa metabolisme sekunder siderofor dan antibiotik.



## SUMMARY

**Study of Multiplication *Pseudomonads fluorescens* PF TMT 27 In Basic Media Liquid Waste Tofu Enriched And Antagonism Potency Inhibite *Phytohthora Nicotianae*.** Imam Rofiq Abdillah, 121510501134; Study Program of Agrotechnology; Faculty of Agriculture; University of Jember

The use of biological agent in controlling a plant pathogens has been made attention researcher in agriculture. This as the effort to reduce of chemicals in controlling plant disease. One of the biological agent have been examined its ability to control disease is bacterium *Pseudomonads fluorescens*. *Pseudomonads fluorescens* get attention around the world relating the production of some antifungal compound; pigment *fluorescens*, siderofofor, volatile compound (HCN) Hidrosinida acid, antibiotic and lytic enzyme.

The problem to application of bacteria *Pseudomonads fluorescens* in field is limited of cheap technology for mass media multiplication, because is too expensive when multiplication in laboratory medium standart. One of the media as potentially alternative as bacteria multiplication medium is waste of tofu industry, it very abundant, not having economic value and unuseful. Composition of the liquid waste tofu per 100 g is 2.7 g fat, 0.5 g carbohydrate, 1.9 g minerals, 4.3 calcium, 19 mg phosphorus and 29 g of iron, that potential to make it as culture media for bacteria *Pseudomonads fluorescens*.

The result of *Pseudomonads fluorescens* culture in liquid waste tofu can be alternative economically for farmers to control plant disease. One of plant disease with seriously destruction is black shank tobacco caused by *Phytophthora nicotianae*. That disease attack tobacco plant start from seedling until plant age 35 until 105 day after planting with the damage level 4.88% to 63.96%.

Preparations stage of this research include isolation *P. nicotianae* from Jember tobacco planting in 2015 and making pure culture for this research, isolation bacteria *Pseudomonads fluorescens* derived from jember tomato planting year 2016, antagonist test of *Pseudomonads fluorescens* against *P. nicotianae* to determine isolate that will be used for research, prepare isolate bacteria *Pseudomonads fluorescens* PF TMT 27. Culture bacteria *Pseudomonads*

*Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27 in liquid waste tofu enriched start with preparation liquid waste tofu then enrich liquid waste tofu using various materials as treatment in this research, and inoculation *Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27 in media culture with various treatment. This research using Completely Randomized Design consisting of 5 treatment with 4 times repetition so there will be 20 unit experiment. Result of the observation data analyzed using analysis variety (ANOVA) and if there is any difference continued by DMRT test 5%.

The result with parameter number of bacteria colonies *Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27 show on week 3 observation is highest colony number for 11 week in all treatment. The colony number of bacteria in all treatment shows above 20 log CFU/ml. High population of bacteria in week 3 observation caused liquid waste tofu is easily used by microorganism so the time it takes for growth relative fast. In addition, the high number of bacteria in that week caused by reducing bacteria cell size in response to environmental stress. Along 11 weeks observation population bacteria in fluctuation unstable, this is because not the presence of carrier materials to keep environmental conditions for bacteria. The result of week 11 observation in all media treatment has decreased the bacteria population with the highest colonies number of bacteria is media addition by 10% dry shrimp extract and 1.5% sugar with the density 7.95 log CFU /ml, that result is not significantly different with medium addition by 10% gold snail meat extract and 1.5% sugar with the number of colonies 7.73 log CFU /ml and significantly different with the other treatment. The lowest treatment on the observation in week 11 is liquid waste tofu without addition by protein source and sugar with colonies number of bacteria 5.58 log CFU/ml, it not significantly different with treatment addition by chicken intestine which colonies number 5.93 log CFU/ml.

The result for antagonist test show all treatment of *Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27 capable inhibiting *P. nicotianae* during 11 weeks observation with different percentage. Week 1 and 3 observation show highest antagonist capability on all treatment tested, the expected on that week with the highest colonies number of bacteria *Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27

influence to produce a secondary metabolism compound is high too. Media treatment who have an stable antagonist capability above 48.85% from week 1 to week 11 observation is media treatment addition by 10% chicken intestine extract and 1.5% sugar. Media multiplication of the liquid waste tofu enriched by addition of 10% chicken intestine and 1.5% sugar appearing of fluorescent pigment after inoculated by bacterium *Pseudomonas fluorescens*. Production that pigment is directly correlated with produced secondary metabolism of siderophore and antibiotic.



## PRAKATA

Puji syukur kehadiran ALLAH S.W.T yang senantiasa melimpahkan rahmat dan hidayahnya, sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis mahasiswa yang berjudul “Kajian Perbanyakan *Pseudomonas Pendarfluor* PF TMT 27 pada Media Dasar Limbah Cair Tahu Diperkaya dan Potensi Antagonismenya dalam Menghambat *Phytophthora nicotianae*”. Penyusunan karya tulis ilmiah ini, tidak sedikit kesulitan dan hambatan yang penulis alami, namun berkat dukungan, dorongan dan semangat dari orang terdekat maka, penulis mampu menyelesaikannya.

Penulis mengucapkan terimakasih kepada pihak-pihak yang telah membantu penyusunan karya ilmiah tertulis ini, yaitu

1. Ibunda Endang Kiswati dan Ayahanda Anas, yang selalu memberikan dukungan dan do'a serta semangat demi kelancaran penyusunan karya tulis ini.
2. Dr. Suhartiningsih Dwi N. S.P., M.Sc. Selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan arahan dan motivasi dalam penyusunan karya tulis ini.
3. Ir. Abdul Majid, MP. Selaku Dosen Pembimbing Anggota yang membantu mengarahkan dan mendukung penulisan karya tulis ini.
4. Prof. Ir. Wiwiek Sri Wahyuni, MS., Ph.D. selaku Dosen Penguji I yang telah memberikan kritik dan saran serta bimbingannya sampai penulis menyelesaikan karya tulis ini.
5. Hardian Susilo Addy, SP., MP. Ph.D. selaku Dosen Penguji II yang telah memberikan kritik dan arahan sampai penulis menyelesaikan karya tulis ini.
6. Ir. Kacung Hariyono, MS., Ph.D. Selaku Dosen Pembimbing Akademik yang membantu dalam perkuliahan dan mendukung penulisan karya tulis ini.
7. Keluarga besar Jazuli dan Kadheri, Saudara-saudaraku, dan kerabat terdekat yang selalu memberikan semangat dalam mengerjakan karya tulis ini.
8. Keluarga D'Agroteknologi'12, Agroteknologi 2012, KKN 153 Tegal Waru, Warga desa Tegal Waru, Kec. Mayang, Kab. Jember, kos Mbah Ni Jl. Jawa 6a No.55, dan semuapihak yang tidak dapat disebut satu per satu.

Penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca guna penyempurnaan karya tulis ini. Akhirnya penulis berharap, semoga tulisan ini dapat bermanfaat. Terimakasih.

Jember, 18 Desember 2017

Penulis

Imam Rofiq Abdillah  
NIM : 121510501134





DAFTAR ISI

	Halaman
<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	ii
<b>HALAMAN PERSEMBAHAN</b> .....	iii
<b>HALAMAN MOTTO</b> .....	iv
<b>HALAMAN PERNYATAAN</b> .....	v
<b>HALAMAN PEMBIMBING</b> .....	vi
<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	vii
<b>RINGKASAN</b> .....	viii
<b>SUMMARY</b> .....	xii
<b>PRAKATA</b> .....	xv
<b>DAFTAR ISI</b> .....	xvii
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xix
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	xx
<b>BAB 1. PENDAHULUAN</b> .....	1
1.1 LatarBelakang .....	1
1.2 RumusanMasalah .....	2
1.3 Tujuan dan Manfaat .....	2
1.3 Manfaat.....	3
<b>BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA</b> .....	4
2.1 Pseudomonas pendarfluor .....	4
2.1.1 Karakteristik Pseudomonas pendarfluor.....	4
2.1.2 Potensi Pseudomonas pendarfluor sebagai agen pengendalian hayati.....	4
2.1.3 Mekanisme pengendalian biologi Pseudomonas Pendarfluor terhadap Patogen.....	4
2.2 <i>Phytophthora nicotianae</i> .....	5
2.2.1 Gejala serangan <i>Phytophthora nicotianae</i> .....	5
2.2.2 Karakteristik dan Daur Penyakit .....	6
2.3 Formulasi Pseudomonas pendarfluor Pf TMT 27 .....	7
2.4 Potensi Limbah Tahu Sebagai Media Biakan Mikroba .....	8
2.5 Bahan Modifikasi Limbah Cair Tahu .....	9
2.5.1 Keong mas.....	9
2.5.2 Usus Ayam.....	9
2.5.3 Udang Kering.....	10
2.6 Hipotesis.....	10
<b>BAB 3. METODE PENELITIAN</b> .....	11
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
3.2 Alat dan Bahan .....	11
3.2.2 Alat.....	11
3.2.3 Bahan.....	11
3.3 Pelaksanaan Penelitian .....	11
3.3.1 Rancangan Penelitian .....	11
3.3.2 Isolasi dan Perbanyakkan <i>Phytophthora nicotianae</i> .....	12
3.3.3 Isolasi Bakteri Pseudomonas pendarfluor .....	12

3.3.4 Uji antagonisme <i>Pseudomonas</i> pendarfluor terhadap <i>P. nicotianae</i> .....	13
3.3.5 Persiapan Bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 .....	13
3.3.6 Persiapan limbah cair tahu.....	13
3.4.7 Penggunaan Limbah Cair Tahu sebagai Media Perbanyak <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27.....	14
3.3.8 Inokulasi bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 .....	14
3.4 Variabel Pengamatan .....	14
3.4.1 Uji Kemampuan Hidup Bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 pada Berbagai Media Limbah Cair Tahu Termodifikasi.....	14
3.4.2 Uji Daya Antagonisme <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 Terhadap <i>P. nicotianae</i> secara <i>in vitro</i> .....	15
<b>BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	16
4.1 Hasil .....	16
4.1.1 Penyebab Penyakit Lanas ( <i>Phytophthora nicotianae</i> ) .....	16
4.1.2 Karakteristik <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 .....	17
4.1.3 Daya Antagonisme <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 terhadap <i>P. nicotianae</i> secara <i>invitro</i> sebelum diperbanyak pada media limbah cair tahu yang diperkaya.....	18
4.1.4 Kemampuan Hidup Bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor PF TMT 27 .....	18
4.1.5 Daya antagonisme <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 Hasil Perbanyak pada Berbagai Perlakuan Terhadap <i>P. nicotianae</i> secara <i>invitro</i> .....	20
4.2 Pembahasan .....	22
<b>BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	28
5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran.....	28
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	29
<b>LAMPIRAN</b> .....	34

DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Judul</b>	<b>Halaman</b>
2.1	Komposisi gizi tahu dan limbah cair tahu dalam 100 gr.....	9
4.1	Populasi bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media (log CFU/ml).....	19
4.6	Daya antagonisme bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media terhadap <i>P. nicotianae</i> secara <i>invitro</i> .....	22



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Judul	Halaman
2.1	a. Gejala <i>P. nicotianae</i> . a. pangkal batang, b. bagian dalam batang.....	6
2.2	Spora <i>P.nicotianae</i> . a. sporangium, b. klamidospora.....	6
4.1	Gejala penyakit lanas ( <i>P. nicotianae</i> ) tanaman tembakau. a. gejala pada pangkal batang, b. tanda pada bagian dalam batang.....	16
4.2	Morfologi <i>P. nicotianae</i> . a. koloni <i>P. nicotianae</i> pada media Oatmeal Agar, b) cendawan <i>P. nicotianae</i> dengan perbesaran 400×. ....	17
4.3	Koloni bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor berpendar.....	17
4.4	Pertumbuhan <i>P.nicotianae</i> pada media PDA a. <i>P. nicotiana</i> dihambat <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27 b. <i>P. nicotianae</i> tanpa <i>Pseudomonas</i> pendarfluor Pf TMT 27.....	18
4.5	Pertumbuhan bakteri <i>Pseudomonas</i> pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media (Log CFU/ml). ....	19
4.6	Daya antagonisme <i>Pseudomonas</i> pendarfluor PF TMT 27 terhadap <i>P. nicotianae</i> pada media PDA minggu ke 3 pengamatan.....	21

## BAB 1 PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Pemanfaatan agen hayati untuk mengendalikan patogen tanaman banyak mendapatkan perhatian peneliti dibidang pertanian. Hal tersebut sebagai upaya mengurangi penggunaan bahan kimia. Bahan kimia tersebut diketahui dapat mempengaruhi resistensi patogen dan kesehatan lingkungan. Penggunaan agen hayati untuk mengendalikan patogen tanaman diharapkan dapat menghasilkan produk pertanian yang aman dikonsumsi dan ramah lingkungan.

Salah satu agen hayati yang banyak diteliti kemampuannya mengendalikan patogen tanaman adalah bakteri *Pseudomonas* pendarfluor. Bakteri tersebut banyak tersebar pada lahan pertanian, memiliki gram negatif, motile, berbentuk batang (Noori dan Saud, 2012). Dilaporkan Ramyasmruthi *et al.*, (2012) *Pseudomonas* pendarfluor (*Pseudomonas fluorescens*, *P. aeruginosa*, *P. putida*) merupakan bakteri antagonis penting yang tersedia di dalam tanah. *Pseudomonas* pendarfluor mendapat perhatian peneliti bidang pertanian berkaitan dengan produksi beberapa senyawa antifungal antara lain; pigmen pendar, siderofor, senyawa volatil seperti asam hidrosianida (HCN), antibiotik dan enzim litik.

Aplikasi agen hayati *Pseudomonas* pendarfluor menghadapi keterbatasan teknologi untuk perbanyakannya yang ekonomis. Hal tersebut karena penyediaan agen hayati relatif mahal apabila diperbanyak pada medium standar laboratorium. Bakteri tersebut merupakan bakteri saprofitik yang mampu bertahan dan berkembang pada sisa-sisa bahan organik (Giyanto dan Tondok, 2009).

Media alternatif yang berpotensi sebagai media perbanyakannya bakteri adalah limbah pengolahan tahu, limbah dengan ketersediaan sangat melimpah, tidak memiliki nilai ekonomi dan tidak dimanfaatkan. Proses pembuatan tahu akan menghasilkan dua jenis limbah yaitu limbah padat dan cair. Pemanfaatan limbah padat banyak dilakukan menjadi produk makanan serta pakan ternak, sedangkan limbah cair tahu masih belum dimanfaatkan maksimal dan bahkan dibuang ke lingkungan. Menurut Nio, dalam Alwi dkk., (2011) Komposisi limbah cair tahu per 100 g terdiri atas 2.7 g lemak, 0.5 g karbohidrat, 1.9 g mineral, 4.3 g

kalsium, 19 mg fosfor, dan 29 mg besi. Kandungan tersebut memungkinkan limbah cair tahu dijadikan sebagai media perbanyakan *Pseudomonas* pendarfluor.

Hasil perbanyakan *Pseudomonas* pendarfluor pada media berbahan dasar limbah dapat menjadi alternatif bagi petani untuk mengendalikan penyakit tanaman. Salah satu penyakit utama yang mengakibatkan kerusakan pada tanaman tembakau adalah penyakit lanas. Penyakit tersebut diakibatkan oleh *Phytophthora nicotianae*. *P. nicotianae* dapat menyerang tanaman mulai fase pembibitan hingga tanaman dewasa. Dilaporkan oleh Roeswitawati dkk., (2004) *P. nicotianae* merupakan penyakit yang mematikan pada tanaman tembakau mulai pembibitan sampai dewasa umur 35 hst sampai 105 hst dengan kerusakan rata-rata 4.88 % - 63.96 %.

Penelitian ini dilakukan dengan menambahkan limbah cair tahu dengan sumber karbon (gula pasir) dan berbagai macam sumber protein. Penambahan tersebut untuk meningkatkan kemampuan tumbuh bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 dan daya antagonismenya dalam menghambat patogen *P. nicotianae*.

## 1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana kemampuan hidup bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya.
2. Bagaimana daya antagonisme bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 setelah diperbanyak pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya terhadap *Phytophthora nicotianae*.

## 1.3 Tujuan

1. Mengetahui kemampuan hidup bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya.
2. Mengetahui daya antagonisme bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 7 setelah diperbanyak pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya terhadap *Phytophthora nicotianae*.

## 1.4 Manfaat

Hasil penelitian dapat memberikan manfaat untuk mengetahui media perbanyakan dari limbah cair tahu yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri *Pseudomonas pendarfluor*, memberikan alternatif yang ekonomis bagi petani untuk mengendalikan penyakit tanaman yang diakibatkan patogen *P. nicotianae*, dan mengurangi dampak pencemaran lingkungan yang diakibatkan banyaknya jumlah limbah cair tahu yang dihasilkan dari proses pembuatan tahu.



## BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 *Pseudomonas* pendarfluor

#### 2.1.1 Karakteristik *Pseudomonas* pendarfluor

*Pseudomonas* pendarfluor merupakan kelompok bakteri dengan gram negatif, aerob, memiliki flagela polar. Bakteri dari golongan tersebut memiliki karakteristik yang berbeda bila dibandingkan dengan bakteri dari golongan yang lain, yaitu kemampuan untuk memproduksi pigmen pendar. Pigmen tersebut merupakan struktur kimia yang belum diketahui (Leisinger dan Margrafft, 1979). Pigmen tersebut menjadi tanda visual bakteri golongan tersebut dengan warna pigmen kuning kehijauan (O'sullivant dan O'gara, 1992). *Pseudomonas* pendarfluor diketahui teragi menjadi 4 spesies yatu *Peudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens* dan *pseudomonas syringae* (Haas dan Defago, 2005).

#### 2.1.2 Potensi *Pseudomonas* pendarfluor sebagai Antagonis Patogen

Hasil penelitian *Pseudomonas fluorescens* yang dibiakkan pada limbah organik cair mampu menekan perkembangan cendawan *Fusarium oxysporum*. Potensi tersebut ditunjukkan hambatan pertumbuhan miselium yang berhadapan langsung dengan bakteri antagonis. Modifikasi media limbah organik cair menampakkan pigmen hijau kekuningan setelah diinokulasi bakteri *P. fluorescens* dan memberikan penekanan pertumbuhan *F. oxysporum* (Giyanto dan Tondok, 2009). Uji antagonis *Pseudomonas fluorescens* strains P.f 07 secara in vitro diketahui efektif menghambat 3 cendawan patogen *Fusarium moniliforme*, *Rhizoctonia solani* dan *Alternaria alternate* dengan daya antagonisme masing – masing sebesar 65.45%, 68.23%, dan 48.13% (Maurya *et al.*, 2014).

#### 2.1.3 Mekanisme pengendalian *Pseudomonas* pendarfluor terhadap patogen

Salah satu kemampuan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor manghambat cendawan patogen adalah menghasilkan senyawa siderofor. Senyawa tersebut diketahui dapat mengikat ion *ferric* ( $Fe^{3+}$ ) dan menghasilkan kompleks *ferric-*



siderofor sehingga mampu berkembang pada kondisi Fe yang rendah. Komplek *ferric*-siderofor yang dihasilkan hanya dapat digunakan organisme yang memiliki reseptor yang sangat spesifik diluar membran sel. Reseptor tersebut dimiliki oleh bakteri *Pseudomonas* pendarfluor yang mengakibatkan ion  $Fe^{3+}$  tidak tersedia bagi patogen, sehingga patogen tidak dapat berkembang pada perakaran tanaman (O'sullivan dan O'gara, 1992).

Enzim litik (kitinase,  $\beta$ -1,3- glukanase, protease) merupakan mekanisme pengendalian bakteri *P. fluorescens*. Enzim tersebut mengganggu perkembangan patogen karena menyebabkan lisis dan hiperparasit. Komponen kitin,  $\beta$ -1,3- glukan dan protein dinding sel patogen dirombak dengan enzim ekstra seluler tersebut. Bakteri yang memiliki kemampuan tersebut dapat mengganggu perkembangan patogen yang menyerang daerah perakaran tanaman budidaya dengan meningkatkan jumlah koloni dan meningkatkan pertumbuhan tanaman budidaya. Sifat tersebut membuat *P. fluorescens* efektif sebagai agen hayati patogen (Ramyasmruthi *et al.*, 2012).

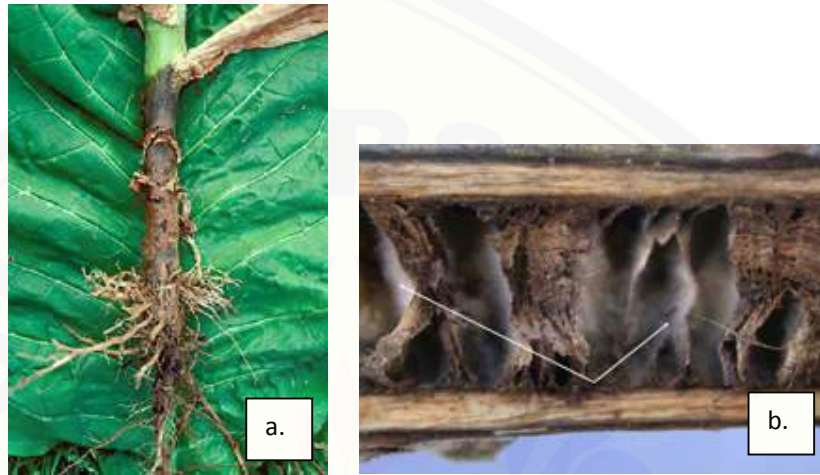
HCN yang diproduksi *P. fluorescens* diketahui sebagai senyawa *antifungal* yang penting untuk mengendalikan cendawan patogen pada akar. Senyawa tersebut berperan sebagai penghambat metabolisme untuk menghindari serangan atau kompetisi dengan patogen. Tanaman inang secara umum tidak berpengaruh terhadap HCN yang dihasilkan oleh bakteri yang diinokulasikan (Noori dan Saud, 2012).

## **2.2 *Phytophthora nicotianae***

### **2.2.1 Gejala serangan *Phytophthora nicotianae***

Gejala serangan *P. nicotianae* yang menyerang tanaman pada fase pembibitan dengan daun bergaris tengah 2 – 3 cm. Penyakit tersebut mula-mula diketahui dari warna daun yang hijau kelabu kotor. Kelembaban udara yang sangat tinggi mengakibatkan penyakit berkembang secara cepat dan tumbuhan segera menjadi busuk. Penyakit yang berkembang pada fase pembibitan dapat meluas dengan cepat, sehingga pembibitan tampak seperti disiram air panas (Semangun, 2000). Menurut Elena (2000) infeksi *P. nicotianae* dapat terjadi pada

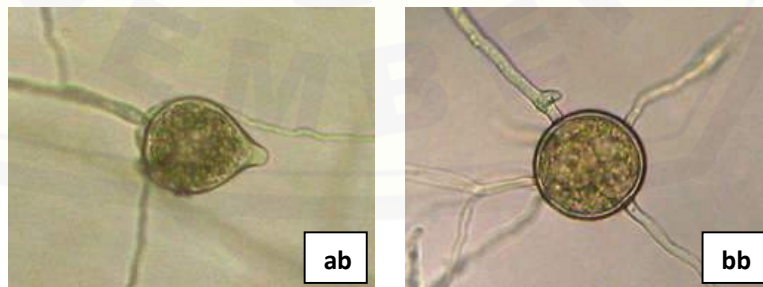
tanaman tembakau fase pembibitan dan dewasa, serangan pada fase bibit mengakibatkan tanaman muda menjadi layu dan rebah, sedangkan pada tanaman tembakau dewasa serangan biasanya terjadi pada pangkal batang (gambar 2.1a). Tanda – tanda serangan *P. nicotianae* jarang terlihat langsung pada batang dan daun, tetapi hifa seringkali terlihat pada bagian dalam batang apabila dibelah (gambar 2.1 b) (Gallup *et al.*, 2006).



Gambar 2.1 Gejala *P. nicotianae*. a. pangkal batang, b. kerusakan empulur bagian dalam batang tembakau (Gallup *et al.*, 2006)

### 2.2.2 Karakteristik dan Daur Penyakit

Morfologi *P. nicotianae* memiliki hifa dengan tipe hialin (tidak berwarna, transparan), tidak bersekat, dan bentuk khas tidak teratur dengan lebar (3 - 11  $\mu\text{m}$ ) serta beberapa hifa yang membesar (swollen). Bertambahnya umur cendawan, hifa akan membentuk pseudosepta dan koloni menjadi kuning terang (Gallup *et al.*, 2006).



Gambar 2.2 Spora *P. nicotianae*. a. sporangium, b. kladospora (Gallup *et al.*, 2006)

Infeksi patogen *P. nicotianae* pada kondisi terendam air atau kondisi yang sangat lembab, akan terbentuk banyak sporangium (*zoosporangium*) yang berbentuk bulat telur seperti buah per (*pyriform*). Bentuk tersebut mempunyai sebuah papil (tonjolan) yang jelas (gambar 2.2 a). Sporangium dapat berkecambah secara tidak langsung dengan membentuk spora kembara (*zoospora*) yang keluar satu per satu dari dalam sporangium, sedangkan Perkecambahan langsung sporangium terjadi dengan pembentukan hifa atau pembuluh kecambah. karena itu, sporangium *P. nicotianae* sering disebut sebagai konidium. Spora kembara mempunyai dua bulu cambuk (*flagellum*) dan dapat berenang dalam air (Semangun, 2000). Menurut Gallup *et al.*, (2006) patogen *P. nicotianae* juga mampu menghasilkan spora aseksual yang dihasilkan pada kondisi lingkungan kering atau pada kondisi yang miskin unsur hara yaitu klamidospora. Spora tersebut memiliki dinding yang tebal terbentuk di ujung (terminal) atau di tengah (interkalar) dari hifa. Klamidospora memiliki diameter 13 – 60  $\mu\text{m}$ , ketebalan dinding kira – kira 1.5  $\mu\text{m}$  (gambar 2.2 b). klamidospora bertindak sebagai spora tahan dan sebagai inokulum yang memulai terjadinya epidemi. Klamidospora diketahui dapat bertahan selama 4 hingga 6 tahun dalam tanah (Gallup *et al.*, 2006).

### 2.3 Formulasi *Pseudomonas* pendarfluor

Pembentukan sel bakteri membutuhkan beberapa unsur penting yaitu karbon, nitrogen, sulfur dan fosfor; bersama dengan H dan O membentuk polimer. Jumlah yang dibutuhkan untuk pembentukan sel dapat diperkirakan dari dasar komposisi sel. Dua unsur utama yang dibutuhkan dalam jumlah banyak yaitu karbon dan nitrogen. Karbon merupakan unsur dengan jumlah yang paling banyak dibutuhkan dalam pembentukan sel karena berfungsi sebagai sumber energi dan penyedia unsur karbon (C) (50% dari massa sel), sedangkan nitrogen (N) dibutuhkan sel 14% dari massa sel. Kebutuhan unsur nitrogen (N) tersebut dapat diperoleh dari bentuk molekul salah satunya adalah  $\text{NH}_4^+$ . Selain itu unsur Nitrogen dapat diperoleh dalam bentuk nitrat, urea, gula amino dan asam amino (Lengeler, 1999).

Kebutuhan kedua unsur pembentuk sel yaitu unsur Karbon (C) dan Nitrogen (N) dapat dipenuhi salah satunya dari limbah cair tahu. Kandungan limbah cair tahu adalah protein terlarut, glukosa, unsur Ca, Na, Cu, Fe serta berbagai mineral yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba (Alwi, dalam Alwi *et al.*, 2011). Hasil penelitian limbah cair tahu dan limbah sampah cair yang masing – masing bahan tersebut ditambah dengan ekstrak jeroan ayam (usus) dan gula pasir menunjukkan pertumbuhan terbaik bakteri *P. fluorescens* (Giyanto dan Tondok, 2009).

Usaha untuk membuat media perbanyak bakteri memiliki beberapa persyaratan yang harus dipenuhi, agar produk perbanyak bakteri dapat dikomersilkan. Produk perbanyak bakteri harus memiliki kualitas dengan parameter sebagai berikut; 1) produk yang masih baru harus mengandung  $2.5 \times 10^8$  cfu/g, 2) 3 bulan setelah penyimpanan pada temperatur ruang, populasinya harus  $8 - 9 \times 10^7$  cfu/g, 3) periode penyimpanan selama 3 – 4 bulan, 4) minimum populasi yang terkandung untuk digunakan  $1 \times 10^8$  cfu/g, 5) produk harus dikemas dalam wadah polythene putih, 6) kelembaban dari produk yang telah jadi harus tidak lebih dari 20 %, dan 7) populasi pada media broth harus  $9 \pm 2 \times 10^8$  cfu/g (Reddy, 2014).

## 2.4 Potensi Limbah Tahu Sebagai Media Biakan Mikroba

Pembuatan tahu menggunakan bahan baku berupa kedelai akan menghasilkan hasil sampingan berupa ampas tahu dan limbah cair (*whey*). Proses pembuatan tahu dengan bahan baku kedelai 60 kg dan air yang digunakan 2700 kg akan menghasilkan tahu 80 kg, ampas tahu 70 kg dan limbah cair tahu (*whey*) sebanyak 2610 kg (Sriharti dkk., 2004). Hasil samping dari pembuatan tahu berupa ampas tahu dapat dimanfaatkan sebagai makanan hewan serta dan oncom, sedangkan limbah cair sebagian besar belum dapat dimanfaatkan.

Menurut Budiarti (2008) limbah cair tahu yang dihasilkan dari proses pembuatan tahu mengandung komposisi kimia yang cukup banyak dan potensi gizi yang cukup tinggi seperti karbohidrat, protein, lemak, serat kasar dan kalsium (Tabel 2.1).

Tabel 2.1 Komposisi gizi tahu dan air limbah tahu dalam 100 gr.

Zat gizi (satuan)	Tahu	Air limbah tahu
Karbohidrat (g)	0.8	2
Protein (g)	10.9	1.75
Lemak (g)	4.7	1.25
Serat kasar (g)	0.7	0.001
Kalsium (mg)	223	4.5

## 2.5 Bahan Tambahan Limbah Cair Tahu

### 2.5.1 Keong mas

Daging keong mas setiap 100 g diperkirakan mengandung sedikitnya 12 gr protein, 64 kkal energi, 2 gr karbohidrat dan sejumlah mineral seperti fosfor, besi, kalsium, magnesium dan iodium serta mengandung vitamin C (Sihombing, dalam Nafiu dan Pagala, 2010). Kandungan beberapa mineral yang terdapat dalam jaringan tubuh keong mas dikarenakan kemampuannya dalam menghasilkan asam amino khusus bernama *metallothionin*, *metallothionin* diketahui mampu mengikat mineral logam (*Cadmium*, *Copper* dan *Zinc*) yang membantu menghindari keracunan mineral tersebut dalam konsentrasi tinggi (Simkiss dan mason; George dalam AbdAllah, 2014). Mineral yang terdapat pada tubuh keong mas untuk memperkaya media perbanyak bakteri agar dapat mendukung pertumbuhan bakteri. Hasil penelitian Duffy dan Defago (1999) menunjukkan, *zinc* dan mineral lain merupakan unsur yang penting bagi sel. Unsur tersebut dapat mempengaruhi integritas membran sel, dan menjadi komponen utama katalis lebih dari 300 enzim dan protein lain. *Zinc* dan mineral lain diketahui mampu meningkatkan stabilitas genetik serta mampu merangsang produksi metabolisme sekunder bakteri *P. fluorescens*.

### 2.5.2 Usus ayam

Sumber protein alternatif yang berpotensi sebagai media perbanyak bakteri adalah limbah peternakan ayam berupa usus, tulang dan kulit. Usus ayam merupakan salah satu bahan yang berpotensi dapat dijadikan sebagai sumber

protein alternatif karena memiliki kandungan protein yang cukup tinggi selain itu usus ayam harganya murah dan mudah didapat (Yustianti dkk., 2013). Pertimbangan aspek ekonomis dengan menggunakan penambahan protein hewani berbahan lokal berupa limbah usus ayam masih sangat mungkin untuk pembiakan masal bakteri, hal tersebut didukung pula dengan kandungan nutrisi yang tinggi, dimana kandungan nutrisi yang terkandung dalam tepung usus ayam antara lain; protein 56%, lemak 23.54%, abu 4.52%, mineral 4.98%, serat kasar 13.14% (Yuda dkk., 2014).

### 2.5.3 Udang kering

Udang kering merupakan bahan yang mengandung protein yang tinggi terutama pada bagian cangkang. Cangkang udang yang telah dikeringkan diketahui memiliki kandungan protein kasar 50% (Palaga, 2010). Pemanfaatan udang kering dapat dijadikan sebagai media perbanyakan bakteri karena kandungan protein yang cukup tinggi dan mengandung serat kasar yang tinggi berupa khitin (Palupi, 2007). Menurut Malathi dan Viswanathan (2013) penambahan khitin yang ditambahkan dalam medium tumbuh patogen fungi mampu meningkatkan daya hambat terhadap miselia oleh bakteri *P. fluorescens*.

## 2.6 Hipotesis

1. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 setelah ditumbuhkan pada media dasar limbah cair tahu yang diperkaya dapat meningkatkan kemampuan hidupnya hingga waktu tertentu dan kemudian akan terjadi penurunan populasi.
2. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 yang dibiakkan pada media dasar limbah cair tahu yang diperkaya mampu menghambat *P. nicotianae*.

## BAB 3 METODOLOGI PENELITIAN

### 3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan September hingga Desember tahun 2016. Bertempat di laboratorium penyakit tumbuhan, Jurusan Hama Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Jember.

### 3.2 Alat dan Bahan

#### 3.2.1 Alat

Alat-alat yang di gunakan pada penelitian ini yaitu: *Laminar Air Flow*, cawan petri, mikropipet, autoklaf, *vortex*, lemari pendingin, *shaker*, tabung plastik, mikroskop, spiritus.

#### 3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini antara lain, Limbah cair tahu, udang kering, usus ayam, keong mas, gula pasir, bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27, *P. nicotianae*, klorok 1.25%, KOH 10%, media King's B, media Oatmeal agar (oatmeal 10 g, agar 15 g, aquades 1000 ml), media PDA (kentang 200 g, Dekstrose 20 g, agar 15 g, aquadest 1000 ml).

### 3.3 Pelaksanaan Penelitian

#### 3.3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), terdiri dari 5 perlakuan dengan 4 kali ulangan sehingga terdapat 20 unit percobaan. Perlakuan yang diuji meliputi, P0 : limbah cair Tahu (kontrol), P1 : limbah cair tahu + gula pasir 1.5%, P2 : limbah cair tahu + gula pasir 1.5% + ekstrak udang kering 10%, P3 : limbah cair tahu + gula pasir 1.5% + ekstrak keong mas P4 : limbah cair tahu + gula pasir 1.5% + ekstrak usus ayam 10%. Data hasil pengamatan dianalisis menggunakan analisis sidik ragam (anova). Apabila terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji DMRT taraf 5%.

### 3.3.2 Isolasi dan Perbanyak *Phytophthora nicotianae*

Sampel tanaman yang menunjukkan gejala serangan *P. nicotianae* berasal dari pertanaman tembakau di Kabupaten Jember pada musim tanam 2015. Isolasi dilakukan dengan memotong batang 5 mm dari atas dan bawah bagian yang sakit dan sehat. Sterilisasi dilakukan pada larutan kloroks 1.25 % selama satu menit, kemudian dibilas dengan air steril dan ditiriskan dengan kertas saring steril. Potongan sampel kemudian ditumbuhkan pada media Oatmeal dan diinkubasi selama 4 – 5 hari pada suhu ruang hingga muncul koloni cendawan. Koloni cendawan yang tumbuh diidentifikasi dengan mikroskop untuk memastikan cendawan tersebut adalah *P. nicotianae* (Hidayah dan Yulianti, 2010). Koloni cendawan *P. nicotianae* yang didapatkan dimurnikan dengan mengambil miselium dan ditumbuhkan pada media Oatmeal agar dan diinkubasi selama 4 – 5 hari pada suhu ruang. Hasil pemurnian kemudian dilakukan perbanyak dengan mengambil miselium ditumbuhkan pada media Oatmeal dan diinkubasi selama 14 hari pada suhu ruang. Hasil perbanyak dapat digunakan dalam uji hambat secara *in vitro*.

### 3.3.3 Isolasi Bakteri Pseudomonas pendarfluor

Isolasi bakteri Pseudomonas pendarfluor untuk penelitian dilakukan pada media king's B. Isolasi dilakukan dengan mensuspensikan 1 g tanah perakaran (rizosfer) tanaman tomat dalam 99 ml aquadest steril. Suspensi kemudian dilakukan pengenceran berseri hingga  $10^4$ , kemudian diambil 100  $\mu$ l dengan mikropipet dan ditumbuhkan pada media king'B dengan metode *spread*. Inkubasi dilakukan pada suhu 28 °C selama 48 dan dilakukan penyinaran dengan UV 365 nm selama beberapa detik untuk mengetahui koloni bakteri yang berpendar. Koloni bakteri yang berpendar kemudian dipindahkan pada media King'B yang telah diberi kode isolat. Koloni bakteri yang berpendar didapatkan 29 isolat bakteri Pseudomonas pendarfluor.



### 3.3.4 Uji antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor terhadap *P. nicotianae*

Uji antagonis *Pseudomonas* pendarfluor dilakukan untuk mengetahui kemampuan antagonisme bakteri hasil isolasi dalam menghambat *P. nicotianae*. Isolat bakteri dengan kode isolat yang berbeda digoreskan pada media PDA di 4 titik yang mengapit cendawan *P. nicotianae* di tengah dengan jarak 2 cm dari tengah cawan petri. Inkubasi selama 7 hari dan dilakukan pengamatan daya hambat dari tiap isolat bakteri untuk menentukan isolat bakteri yang digunakan penelitian (Jin *et al.*, 2011). Hasil pengamatan didapatkan beberapa isolat bakteri *Pseudomonas* pendarfluor dapat menghambat *P. nicotianae* dan bakteri dengan kode isolat PF TMT 27 yang digunakan dalam penelitian. Isolat tersebut menghasilkan daya antagonisme terbaik bila dibandingkan dengan isolat yang lain. Bakteri tersebut kemudian dibuat stok dengan menambahkan suspensi bakteri pada 50% gliserol dan disimpan pada suhu rendah (Boer *et al.*, 1999).

### 3.3.5 Persiapan Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27

Perbanyakan *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 dilakukan dengan menumbuhkan bakteri yang berasal dari stok gliserol pada medium King's B dengan metode *streak*. Inkubasi dilakukan selama 48 jam. Hasil koloni tunggal yang terbentuk diambil dan diperbanyak pada 20 ml media Nutrient Broth cair dengan menggunakan *shaker* kecepatan 100 rpm selama 13 jam (Prabowo, 2015). Hasil perbanyakan siap diinokulasikan pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya.

### 3.3.6 Persiapan Limbah Cair Tahu

Limbah cair tahu diperoleh dari pabrik pengolahan tahu di Desa Tegalwaru, Kec. Mayang, Kab. Jember. Limbah tahu yang didapatkan kemudian disaring pada gelas beaker untuk memisahkan kotoran yang terbawa. Hasilnya kemudian dibagi menjadi dua bagian untuk perlakuan kontrol dan diperkaya.

### 3.3.7 Penggunaan Limbah Cair Tahu sebagai Media Perbanyak Pseudomonas Pendarfluor PF TMT 27

Pembuatan media limbah cair tahu dengan penambahan ekstrak protein dan gula pasir dilakukan dengan pembuatan ekstrak protein. Ekstrak protein diperoleh dengan membuat kaldu dari masing - masing bahan yaitu udang rebon, usus ayam dan keong mas. Caranya, 5 gram bahan direbus pada 100 ml aquadest selama 10 menit (Giyanto dan Tondok, 2009). Larutan ekstrak kemudian disaring dan siap digunakan sebagai bahan tambahan limbah cair tahu. Media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya ekstrak protein dan gula pasir didapatkan dengan mencampur 88.5 ml larutan limbah cair tahu, 10 ml larutan ekstrak dan 1.5 g gula pasir hingga larutan homogen. Larutan tersebut diatur pH nya dengan menambahkan KOH atau HCL 10% sampai pH 6.5 – 7.0. Sterilisasi media dengan menggunakan autoklaf dan siap digunakan sebagai media biakan bakteri.

### 3.3.8 Inokulasi bakteri Pseudomonas pendarfluor Pf TMT 27

Media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya dengan berbagai perlakuan, diinokulasi kultur bakteri Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 dengan perbandingan (100 : 1) (Giyanto dan Tondok, 2009). Setiap 100 ml media perbanyak ditambahkan 1 ml bakteri Pseudomonas pendarfluor Pf TMT 27 yang ditumbuhkan pada media Nutrient Broth cair. 25 ml media perbanyak yang telah diinokulasi disimpan pada botol dan diinkubasi pada suhu ruang.

## 3.4 Variabel Pengamatan

### 3.4.1 Uji Kemampuan Hidup Bakteri Pseudomonas pendarfluor Pf TMT 27 pada Berbagai Media Limbah Cair Tahu diperkaya

Uji kemampuan hidup bakteri Pseudomonas pendarfluor Pf TMT 27 dilakukan dengan menghitung jumlah koloni bakteri menggunakan metode pengenceran berseri setiap 2 minggu sekali. Media perbanyak berbagai perlakuan dihomogenkan dengan cara menggojok hingga homogen. Media biakan diambil 1ml dengan mikropipet dan diencerkan menggunakan metode pengenceran berseri. Hasil pengenceran kemudian ditubuhkan pada media

Nutrient Agar dan diinkubasi pada suhu ruang. Perhitungan jumlah koloni (log CFU/ml) bakteri pada umur 2 hari dengan menggunakan rumus:

$$\sum \text{Populasi ( log CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah koloni pada pengenceran ke-}}{\text{faktor pengenceran x volume suspensi yang disebar (ml)}}$$

### 3.4.2 Uji Potensi Antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 Terhadap *P. nicotianae* secara *in vitro*

Uji potensi antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor Pf TMT 27 terhadap *P. nicotianae* dilakukan dengan metode *dual culture* dengan menggunakan medium tumbuh PDA (*Potato Dextrose Agar*). Cendawan *P. nicotianae* yang telah berumur 7 hari dipotong dengan alat plong dengan diameter 5 mm dan dipindahkan di tengah media PDA. Kertas saring dengan ukuran 1 cm<sup>2</sup> diletakkan pada 3 tempat mengapit cendawan *P. nicotianae* dengan jarak 2 cm dari tengah cawan petri, kertas saring kemudian ditetesi dengan 10 µl media biakan *Pseudomonas* pendarfluor dengan berbagai perlakuan (Melliawati *et al.*, 2006). Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 7 hari dan dihitung daya hambatnya dengan rumus :

$$\text{Daya hambat (\%)} = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100\%$$

Keterangan :

R1 = Jari – jari pertumbuhan patogen ke arah tepi cawan (cm)

R2 = Jari – jari pertumbuhan patogen ke arah bakteri (cm)

## BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Hasil

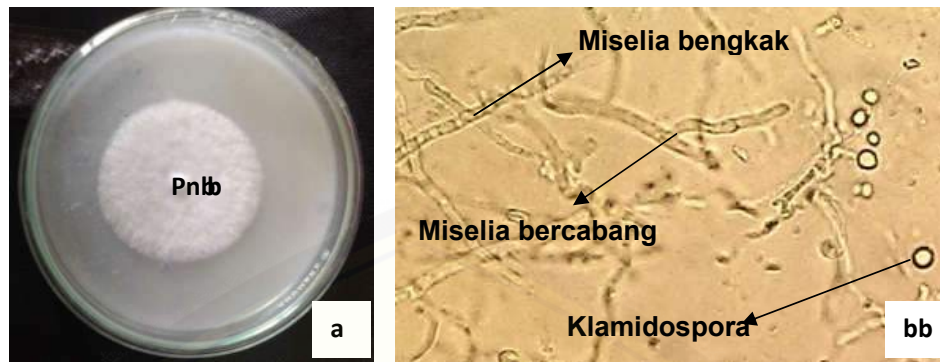
#### 4.1.1 Penyebab Penyakit Lanas (*Phytophthora nicotianae*)

Penyakit lanas pada tanaman tembakau yang disebabkan patogen *P. nicotianae* menunjukkan gejala busuk pada pangkal batang (gambar 4.1 a) dan bila dibelah batangnya jaringan dalamnya terbentuk piringan yang bersekat – sekat (gambar 4.1 b).



Gambar 4.1 Gejala penyakit lanas (*P. nicotianae*) tanaman tembakau. a. gejala pada pangkal batang, b. tanda pada bagian dalam batang

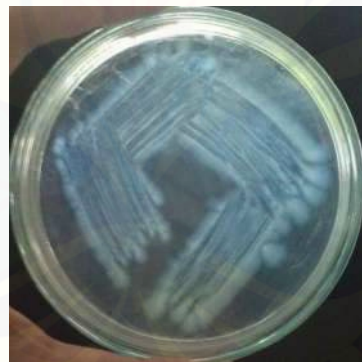
Hasil isolasi *P. nicotianae* yang ditumbuhkan di media Oatmeal mengalami pertumbuhan yang lambat dengan miselia pada berwarna putih susu (*cream*) (gambar 4.2 a), sedangkan pengamatan mikroskop pada gambar 4.2 b menunjukkan ciri – ciri *P. nicotianae* yaitu miselia yang membengkak (*swollen mycelia*), miselia bercabang (*branches mycelia*) dan klamidospora sebagai bentuk spora tahan *P. nicotianae*.



Gambar 4.2 Morfologi *P. nicotianae*. a. koloni *P. nicotianae* pada media Oatmeal Agar, b) cendawan *P. nicotianae* dengan perbesaran 400×

#### 4.1.2 Karakteristik *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27

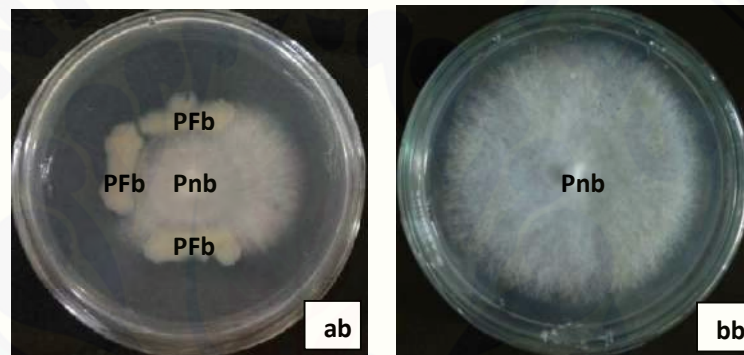
Isolat bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 setelah ditumbuhkan pada media King's B dan dilakukan pengamatan di bawah sinar UV menunjukkan ciri bakteri dengan pigmen pendar yang berwarna biru kehijauan (gambar 4.3) dan memiliki gram negatif.



Gambar 4.3 Koloni bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 berpendar

#### 4.1.3 Daya Antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terhadap *P. nicotianae* secara *invitro* sebelum diperbanyak pada media limbah cair tahu yang diperkaya

Daya antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terhadap *P. nicotianae* secara *invitro* ditunjukkan gambar 4.4. Gambar 4.4 a menunjukkan daya antagonisme bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 dalam menghambat *P. nicotianae* secara *invitro*, sedangkan gambar 4.4 b menunjukkan pertumbuhan *P. nicotianae* tanpa bakteri antagonis dengan jari – jari 4,5 cm. Berdasarkan jari – jari koloni cendawan *P.nicotianae* pada gambar 4.4 dapat diketahui bahwa *Pseudomonas fluorescens* PF TMT 27 mampu menghambat *P. nicotianae* secara *in vitro* sebesar 55.5 %.

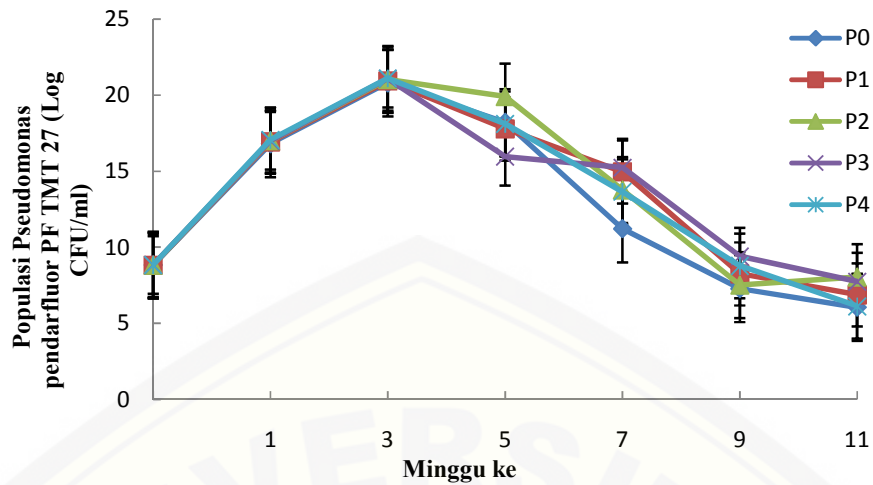


Gambar 4.4 Pertumbuhan *P.nicotianae* pada media PDA a. *P. nicotianae* dihambat *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 b. *P. nicotianae* tanpa *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27

#### 4.1.4 Kemampuan Hidup Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27

a. Pola Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 pada media limbah cair tahu yang diperkaya

Pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 (gambar 4.5) menunjukkan pola pertumbuhan yang sama seperti pertumbuhan bakteri pada umumnya. Fase pertumbuhan sel bakteri tersebut terbagi menjadi 3 yaitu, fase *lag* (adaptasi) terjadi sebelum minggu 1 pengamatan, fase ekponensial (pembelahan sel yang cepat) terjadi diantara minggu 1 dan 3 dan fase stasioner (populasi tertinggi) di sekitar minggu ke 3 pengamatan. Penurunan populasi bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terjadi pada minggu 5 hingga 11 pengamatan yang diketahui sebagai fase kematian sel.



Gambar 4.5 Pertumbuhan bakteri Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media (Log CFU/ml). P0 (limbah cair tahu), P1 (limbah cair tahu + gula 1.5%), P2 (limbah cair tahu + udang kering 10% + gula 1.5%), P3(limbah cair tahu + keong mas 10% + gula 1.5%), P4 (limbah cair tahu + usus ayam 10% + gula 1.5%)

b. Kemampuan hidup Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 yang ditumbuhkan pada berbagai media

Kemampuan hidup bakteri Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 setelah diperbanyak pada media limbah cair tahu dengan perlakuan yang berbeda selama 11 minggu ditunjukkan pada tabel 4.1

Tabel 4.1 Populasi bakteri Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media dengan perlakuan yang berbeda (log CFU/ml)

Perlakuan	Rerata jumlah koloni (log CFU/mL) Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 pada penyimpanan minggu ke-		
	0	3	11
P0	8.00 <i>ns</i>	20.79 <i>ns</i>	5.58 <i>c</i>
P1	8.00 <i>ns</i>	20.85 <i>ns</i>	6.79 <i>b</i>
P2	8.00 <i>ns</i>	20.99 <i>ns</i>	7.95 <i>a</i>
P3	8.00 <i>ns</i>	21.00 <i>ns</i>	7.73 <i>a</i>
P4	8.00 <i>ns</i>	21.08 <i>ns</i>	5.93 <i>c</i>

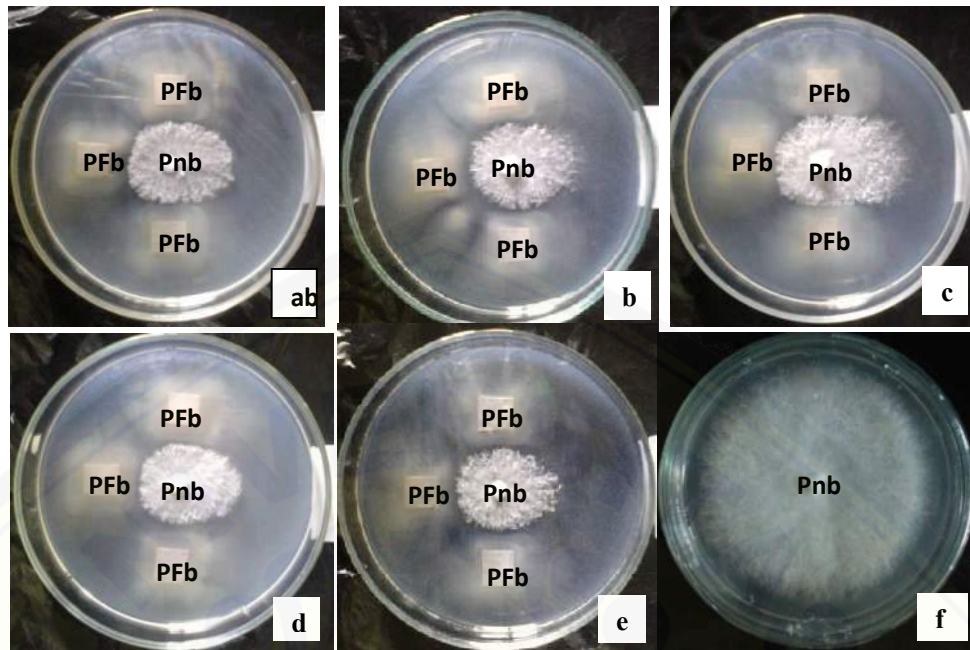
Keterangan : *ns* = berbeda tidak nyata; P0 (limbah cair tahu), P1 (limbah cair tahu + gula 1.5%), P2 (limbah cair tahu + udang kering 10% + gula 1.5%), P3 (limbah cair tahu + keong mas 10% + gula 1.5%), P4 (limbah cair tahu + usus ayam 10% + gula 1.5%); Uji lanjut DMRT 5%

Hasil perhitungan rerata jumlah koloni (tabel 4.1) menunjukkan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 mampu tumbuh dan bertahan selama 11 minggu penyimpanan dengan rerata jumlah koloni yang berbeda tiap perlakuan. Minggu ke 3 pengamatan merupakan rerata jumlah koloni tertinggi selama 11 minggu pengamatan pada semua perlakuan. Tingkat kerapatan bakteri semua perlakuannya menunjukkan rerata jumlah koloni diatas 20 log CFU/ml. Hasil pengamatan minggu ke 11 semua perlakuan mengalami penurunan populasi bakteri terendah dibandingkan dengan minggu pengamatan lainnya. Rerata jumlah koloni tertinggi terjadi pada perlakuan media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya dengan udang kering dengan kerapatan bakteri 7.95 log CFU/ml. Hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan keong mas yang memiliki rerata jumlah koloni 7.73 log CFU/ml dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Perlakuan terendah pada pengamatan minggu 11 adalah media limbah cair tahu tanpa penambahan protein dan gula pasir dengan kerapatan bakteri 5.58 log CFU/ml, tidak berbeda nyata dengan perlakuan penambahan usus ayam yang memiliki rerata jumlah koloni 5.93 log CFU/ml dan berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

#### **4.1.5 Daya Antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 Hasil Perbanyakannya pada Berbagai Perlakuan Terhadap *P. nicotinae***

Gambar 4.6 merupakan hasil uji antagonisme bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 setelah diperbanyak pada media dasar limbah cair tahu berbagai perlakuan dalam menghambat *P. nicotinae* secara *Invitro*. Gambar 4.6 (a, b, c, d, e) menunjukkan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 (PF) mampu menekan pertumbuhan *P. nicotiana* (Pn). Perbedaan ditunjukkan gambar 4.6 f, cendawan *P. nicotiana* yang ditumbuhkan tanpa pemberian suspensi bakteri antagonis dapat tumbuh dengan baik memenuhi cawan petri.





Gambar 4.6 Daya antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terhadap *P. nicotianae* pada media PDA minggu ke 3 pengamatan dengan inkubasi 7 hari. a. P0 (limbah cair tahu), b. P1 (limbah cair tahu + gula 1.5%), c. Hasil uji hambat perlakuan P2 (limbah cair tahu + udang kering 10% + gula 1.5%), d. Hasil uji hambat perlakuan P3 (limbah cair tahu + keong mas 10% + gula 1.5%), e. Hasil uji hambat perlakuan P4 (limbah cair tahu + usus ayam 10% + gula 1.5%), f) kontrol

Daya antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 pada semua perlakuan media terhadap patogen *P. nicotianae* secara *invitro* ditunjukkan tabel 4.2. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 setelah diperbanyak pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya mampu menghambat cendawan *P. nicotianae* selama minggu ke 11 dengan presentase yang berbeda. Perlakuan yang memiliki daya antagonisme stabil dari minggu 1 hingga ke 11 adalah perlakuan media dasar limbah cair tahu yang diperkaya dengan ekstrak usus ayam 10% dan sumber karbon 1.5% (P4). Perlakuan tersebut menghasilkan daya antagonis diatas 48.85%. Minggu 1 pengamatan perlakuan P4 daya antagonisme terhadap *P. nicotianae* sebesar 67.50%, hasil tersebut tidak berbeda nyata dengan perlakuan P0 (kontrol), P2 (limbah cair tahu + ekstrak udang kering 10% + gula pasir 1.5%), dan P3 (limbah cair tahu + ekstrak keong mas 10% + gula pasir

1.5%) masing – masing sebesar 66.91%, 68%, dan 66.16% dan berbeda dengan perlakuan lainnya. Daya antagonisme pada minggu ke 5 menunjukkan perlakuan P4 menghambat *P. nicotianae* sebesar 67.19%, tidak berbeda nyata dengan perlakuan P0, P1 (limbah cair tahu + gula pasir 1.5%) dan P3 dengan daya antagonis masing - masing sebesar 57.57%, 63.10% dan 59.84%. Perlakuan P4 pada minggu ke 7 menunjukkan daya antagonis sebesar 70.22%, hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Pengamatan daya antaonisme perlakuan P4 pada minggu ke 9 mampu menghambat *P. nicotianae* sebesar 48.85%, perlakuan tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya. Minggu ke 11 pengamatan daya antagonisme perlakuan P4 sebesar 49.31%, hasil tersebut berbeda nyata dengan perlakuan lainnya.

Tabel 4.2 Daya antagonisme Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 setelah Diperbanyak pada Media Dasar Limbah Cair Tahu yang Diperkaya terhadap *P. nicotianae* (%) selama 11 minggu

Perlakuan	Daya antagonisme Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 setelah Diperbanyak pada Media Dasar Limbah Cair Tahu yang Diperkaya terhadap <i>P. nicotianae</i> (%) selama 11 minggu					
	1	3	5	7	9	11
P0	66.91 b	60.87 ns	57.57 ab	53.22 b	37.37 ab	32.10 b
P1	62.87 a	61.97 ns	63.10 b	54.95 b	31.28 a	32.14 b
P2	68.00 b	62.95 ns	49.24 a	42.41 a	44.64 b	26.14 a
P3	66.16 b	61.82 ns	59.84 b	60.53 b	37.63 ab	29.79 ab
P4	67.50 b	63.30 ns	67.19 b	70.22 d	48.85 d	49.31 d

Keterangan : ns = not significant, P0 (limbah cair tahu), P1(limbah cair tahu + gula pasir 1.5%), P2(limbah cair tahu + udang kering 10% + gula pasir 1.5%), P3(limbah cair tahu + keong mas 10% + gula pasir 1.5%), P4(limbah cair tahu + usus ayam 10% + gula pasir 1.5%); Uji lanjut DMRT 5%

#### 4.2 Pembahasan

Daya antagonisme bakteri Pseudomonas pendarfluor PF TMT 27 terhadap patogen *P. nicotianane* sebelum diperkaya pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya pada gambar 4.4 a menunjukkan bakteri tersebut mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*. Kemampuan tersebut ditunjukkan dengan pertumbuhan miselium cendawan *P. nicotianae* yang menghadap bakteri antagonis terhambat pertumbuhannya. Daya antagonisme bakteri Pseudomonas

pendarfluor terhadap patogen diketahui sebagai kemampuan bakteri untuk menghasilkan senyawa metabolisme sekunder seperti antibiotik, senyawa (HCN), dan siderofor (Meena, 2014).

Hasil pengamatan pada tabel 4.1 menunjukkan semua media perlakuan yang digunakan dalam penelitian ini mampu mendukung pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27. Bakteri tersebut selama 11 minggu penyimpanan mampu bertahan pada media perlakuan dengan rerata populasi yang berbeda – beda. Pola pertumbuhan *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 pada berbagai media perlakuan tersebut menunjukkan fase pertumbuhan bakteri. Menurut Isabelle *et al.*, (2006) perkembangan populasi mikroba terjadi pada 3 fase, fase pertama adalah fase *lag* dimana fase ini merupakan fase adaptasi sel bakteri dengan media, fase kedua yaitu *exponential* merupakan fase dimana bakteri terus membelah dengan cepat, fase *stationary* dimana bakteri mencapai populasi tertinggi dengan pembentukan sel bakteri sama dengan tingkat kematian sel dan fase *death cell* merupakan fase dimana terjadi penurunan populasi bakteri akibat pembentukan sel bakteri yang baru tidak mampu mengimbangi jumlah sel bakteri yang mati. Gambar 4.5 menunjukkan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang ditumbuhkan pada semua perlakuan mencapai titik pertumbuhan terbaik pada minggu ke 3 pengamatan. Tingginya hasil rerata jumlah koloni pada minggu ke 3 diduga bakteri dapat memanfaatkan nutrisi media yang tersedia dengan maksimal. Menurut Hastuti dan Handajani (2001) limbah cair yang dihasilkan oleh industri tahu merupakan limbah organik yang mudah diuraikan oleh mikroorganisme. Kondisi media yang baik tersebut mengakibatkan waktu yang dibutuhkan untuk pertumbuhan bakteri menjadi relatif cepat (Madigan *et al.*, 2011). Tingginya jumlah bakteri pada pengamatan minggu ke 3 diduga bakteri mengurangi ukuran sel sebagai respon terhadap tekanan lingkungan pada media tumbuh. Novitsky dan Morita (1976) menyatakan respon bakteri pada kondisi lingkungan yang tidak mendukung salah satunya dengan meningkatkan jumlah sel tanpa terjadi peningkatan biomassa melalui pengurangan ukuran sel. Berkurangnya ukuran sel menghasilkan sel dengan ukuran ultramikro. Torella dan Morita (1981) mendefinisikan bakteri dengan ukuran ultramikro sebagai bakteri

dengan ukuran lebih kecil dari diameter sel 0,3  $\mu\text{m}$ . Bakteri tersebut mampu menyesuaikan kondisi lingkungan yang terbatas melalui penyesuaian fisiologis sehingga dapat bertahan pada kondisi tekanan lingkungan (baker *et al.*,1983). McDade dan Hall (1964) menambahkan bakteri dengan gram negatif dapat bertahan pada media perbanyakan selama periode tertentu penyimpanan salah satunya bergantung pada ketersediaan oksigen.

Selama 11 minggu penyimpanan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang diperbanyak pada media dasar limbah cair tahu dengan perlakuan yang berbeda menunjukkan fluktuasi yang tidak stabil. Hal tersebut diduga tidak adanya penambahan bahan pembawa (*carrier*) yang dapat mempertahankan kondisi lingkungan pada media perbanyakan bakteri. Dandurand *et al.*, (1994) menyatakan penggunaan bahan pembawa diketahui dapat melindungi bakteri dari tekanan lingkungan dengan mengatur perbanyakan bakteri selama periode penyimpanan, menjaga ketersediaan nutrisi, kelembaban dan suhu yang sesuai. Penurunan rerata koloni bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terjadi mulai minggu ke 5 hingga minggu ke 11 pengamatan, diduga karena tingginya kematian sel bakteri tanpa diimbangi dengan pembentukan sel bakteri yang baru (fase kematian sel). Menurunnya populasi bakteri tersebut dikarenakan rendahnya kualitas media sehingga mengakibatkan media tidak mampu mendukung perkembangan bakteri. Menurut Dwijoseputro (2003) penurunan jumlah sel karena pengaruh berkurangnya komposisi nutrisi baik dari kualitas maupun kuantitas. Berkurangnya nutrisi pada media perbanyakan mengakibatkan bakteri tidak mampu memperbanyak sel dengan maksimal. Penurunan kondisi lingkungan media juga dapat mempengaruhi penurunan koloni bakteri diantaranya faktor pH dan senyawa metabolisme sekunder. Menurut Erkmen dan Bozoglu (2016) rendahnya pH pada lingkungan tumbuh dapat mengakibatkan pertumbuhan bakteri terhambat, karena penggunaan nutrisi yang tersedia pada media tumbuh. Haas dan Defago (2005) menyatakan pada kondisi lingkungan *invitro* bakteri mampu menghasilkan senyawa metabolisme sekunder berupa antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri.

Berdasarkan hasil penghitungan jumlah koloni selama 11 minggu penyimpanan diketahui perlakuan media dasar limbah cair tahu yang diperkaya dengan penambahan sumber protein udang kering dan keong mas mampu mendukung pertumbuhan *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27. Tingginya rerata jumlah koloni bakteri tersebut pada media dasar limbah cair tahu dengan penambahan udang kering 10% dan gula pasir 1.5%, diduga cangkang udang kering memiliki kandungan protein yang tinggi. Menurut Suptijah *et al.*, (2012) hasil analisa protein menunjukkan cangkang udang memiliki kadar protein sebesar 47.18%. Tingginya jumlah protein tersebut diduga mampu mencukupi kebutuhan bakteri selama 11 minggu penyimpanan. Protein diketahui sebagai salah satu unsur makro Nitrogen (N) yang berfungsi untuk pembentukan sel, sehingga ketersediaannya menjadi penting pada media perbanyakan bakteri. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang dibiakkan pada media dasar limbah cair tahu dengan penambahan ekstrak keong mas 10% dan gula pasir 1.5% juga menunjukkan daya dukung terbaik pada penelitian ini. Kandungan beberapa mineral penting diduga mampu meningkatkan integritas membran sel dan stabilitas genetik *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 sehingga bakteri pada media tersebut dapat bertahan selama 11 minggu penyimpanan. Menurut Giyanto *et al.*, (2009) media pertumbuhan bakteri memiliki kandungan nutrisi yang berbeda, perbedaan tersebut sangat menentukan viabilitas sel bakteri serta pembentukan sel mikroorganisme.

Kemampuan yang rendah dalam mendukung pertumbuhan bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 ditunjukkan media dasar limbah cair tahu tanpa penambahan sumber protein dan gula pasir. Hal tersebut dikarenakan rendahnya kandungan nutrisi sehingga tidak mampu mencukupi pertumbuhan bakteri selama 11 minggu penyimpanan. Menurut Giyanto dan Tondok (2009) limbah cair tahu, tetes tebu, limbah cair peternakan dan limbah cair sampah dapat berpotensi sebagai media pertumbuhan *P. fluorescens* dengan melakukan modifikasi berupa penambahan ekstrak protein hewani dan gula pasir.

Hasil pengamatan daya antagonisme *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 terhadap *P. nicotianae* setelah ditumbuhkan pada media dasar limbah cair tahu

berbagai perlakuan selama 11 minggu menunjukkan bakteri mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*. Kemampuan tersebut diduga karena bakteri mampu menghasilkan senyawa metabolisme sekunder yang mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae*. Menurut Haas dan Defago (2005) mekanisme pengendalian oleh *Pseudomonas* pendarfluor antara lain produksi antibiotik seperti 2,4 Deacetylphloroglucinol (PHL), pyoluteorin (PLT), pyrrolnitrin, hydrogen sianida (HCN) dan phenazine-1-carboxylate, serta siderofor yang terdiri dari pyocelin dan pyoverdin. Pengamatan pada minggu ke 1 dan ke 3 menghasilkan daya antagonisme tertinggi dari semua perlakuan yang diuji, diduga pada minggu tersebut bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang memiliki rerata jumlah koloni tinggi mampu memproduksi senyawa metabolisme sekunder dalam jumlah besar, sehingga mampu menghambat pertumbuhan *P. nicotianae* dengan maksimal. Giyanto dan Tondok (2009) menyatakan aktivitas antagonis bakteri *Pseudomonas* pendarfluor yang diperbanyak pada media perbanyakan berbanding lurus dengan jumlah polulasinya.

Daya antagonisme yang tinggi dan stabil dari *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 setelah diperbanyak pada media dasar limbah air tahu yang telah diperkaya terhadap *P. nicotianae* terjadi pada perlakuan media dasar limbah cair tahu dengan penambahan ekstrak usus ayam 10% dan gula pasir 1.5%. Hal tersebut diduga bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang diperbanyak pada media dengan penambahan usus ayam mampu meningkatkan produksi senyawa metabolisme sekunder yang mampu menekan perkembangan *P. nicotinae*. Menurut Giyanto dan Tondok (2009) media perbanyakan dari limbah cair tahu yang telah diperkaya dengan penambahan sumber protein usus ayam 10% dan gula pasir menampakakan hasil berupa pigmen pendar setelah diinokulasi bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Produksi pigmen biru kehijauan dan hijau kekuningan berbanding lurus dengan produksi senyawa metabolisme sekunder siderofor dan antibiotik.

Secara umum bakteri yang ditumbuhkan pada semua media perlakuan di minggu ke 1 dan 3 merupakan kondisi media terbaik bila dibandingkan dengan minggu pengamatan lainnya. Hal tersebut terlihat dari jumlah koloni yang tinggi

bila dibandingkan dengan lama penyimpanan lainnya, sehingga untuk memperbanyak bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 dengan media dasar limbah cair tahu dan beberapa bahan tambahan sebaiknya dilakukan penyimpanan selama 1 – 3 minggu. Hasil pengamatan daya tahan media dan antagonisme terhadap *P. nicotianae* menunjukkan media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya dengan ekstrak usus ayam 10% dan gula pasir 1.5% mampu mendukung pertumbuhan bakteri selama 11 minggu pengamatan dan stabil dalam menghambat pertumbuhan cendawan *P. nicotianae*.



## BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang ditumbuhkan pada media dasar limbah cair tahu yang telah diperkaya dapat bertahan hingga minggu ke 11 dengan media perlakuan penambahan keong mas dan udang kering sebesar 10% dan gula pasir 1.5% merupakan media terbaik pada penelitian ini.
2. Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 yang ditumbuhkan pada media dasar limbah cair tahu yang diperkaya dengan penambahan ekstrak usus ayam 10% dan gula pasir 1.5% memiliki potensi antagonisme terbaik dengan kemampuan hambat diatas 30%.

### 5.2 Saran

1. Memerlukan penelitian tentang penambahan bahan pembawa agar fluktuasi populasi bakteri tidak terlalu tinggi
2. Perlu pengujian kemampuan menghambat bakteri *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 dalam menghambat *P. nicotianae* secara *in vivo*, sehingga dapat diketahui efektifitasnya dalam mengendalikan secara lapang.
3. Memerlukan pengujian untuk mengetahui senyawa apa saja yang dihasilkan dalam penghambatan perkembangan *P. nicotianae* setelah *Pseudomonas* pendarfluor PF TMT 27 dibiakkan pada media yang berbeda.
4. Memerlukan pengujian mengenai potensi media limbah cair tahu termodifikasi sebagai pengganti media sintesis.
5. Isolasi cendawan *P. nicotianae* sebaiknya menggunakan media PDA terlebih dahulu dengan tujuan untuk menemukan hifanya, karena pada media oatmeal cendawan ini lebih lambat pertumbuhannya bila dibandingkan dengan cendawan yang lain sehingga menyulitkan dalam memurnikannya. Setelah mendapat cendawan yang murni baru dipindahkan ke media Oatmeal agar untuk penyimpanannya.



## DAFTAR PUSTAKA

- AbdAllah, A, T. 2014. Light Structure as Biomarker for Heavy Metal Bioaccumulation and Toxicity in Molluscan Gastropods. *Advances in Scientific Research and Education*:330-334
- Alwi, M, Rahmiati, dan Umrah. 2011. Pemanfaatan Limbah Cair Tahu (Whey Tahu) Sebagai Media Tumbuh *Acetobacter xylinum* untuk Memproduksi Nata. *Biocelbes*, Vol.5(2):91-98
- Baker, R. Mlv., F. L. Singleton, dan NI. A. Hood. 1983. The effects of nutrient deprivation on *Vibrio cholerae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, Vol.46:930-940
- Boer, M, D, Sluis, L, V, D, Loon, L, C, V dan Bakker, P, A, H, M. 1999. Combining fluorescent *Pseudomonas* spp. strains to enhance suppression of fusarium wilt of radish. *Plant Pathology*, Vol.105:201–210
- Budiarti, R, S. 2008. Pengaruh Konsentrasi Starter *Acetobacter xylinum* Terhadap Ketebalan Dan Rendemen Selulosa Nata de Soya. Vol.1(1):19-24
- Dandurand, L, M, Morra, M, J, Chaverra, M, H dan Orse, C, S. 1994. Survival of *Pseudomonas* Spp in Air-Dried Mineral Powders. *Soil Bid. Biochem.*, Vol.26(10):1423-1430
- Duffy, B, K dan Defago, G. 1999. Environmental Factors Modulating Antibiotic and Siderophore Biosynthesis by *Pseudomonas fluorescens* Biocontrol Strains. *Applied and Environmental Microbiology*, Vol. 65(6):2429–2438
- Dwidjoseputro, D. 2003. *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Edisi 14. Djambatan. Jakarta
- Elena, K. 2000. Pathogenicity of *Phytophthora nicotianae* isolates to tobacco and tomato cultivars. *Phytopathol. Mediterr*, Vol.39:245-250.
- Erkmen, O dan Bozoglu, T, F. 2016. *Food Microbiology: Principles into Practice, First Edition*. John Wiley & Sons, Ltd.
- Gallup, C.A., M.J. Sullivan, dan H.D. Shew. 2006. Black Shank of Tobacco. *The Plant Health Instructor*. DOI: 10.1094/PHI-I-2006-0717-01 [serial online] [ 1 desember 2015]
- Giyanto A, Suhendar dan Rustam. 2009. Kajian pembiakan bakteri kitinolitik *Pseudomonas fluorescens* dan *Bacillus* sp. pada limbah organik dan formulasinya sebagai pestisida hayati (BIOpesticide). Prosiding seminar hasil penelitian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Giyanto dan Tondok,E, T. 2009. Kajian Pemanfaatan Limbah Organik Cair untuk pembiakan Masal Agens Antagonis *Pseudomonas Flourescens* serta Uji

- Potensinya Sebagai 810-Pestisida. *Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol. 14(2):97-107
- Haas, D dan Défago, G. 2005. Biological Control Of Soil-Borne Pathogens by Fluorescent Pseudomonads. *Nature Reviews Microbiology*:1–13
- Hastuti, D, S, dan Handajani, H. 2001. Budidaya Pakan Alami. Malang. Fakultas Peternakan-Perikanan Universitas Muhammadiyah Malang.
- Hidayah, N dan Yulianti, T. 2010. Pengaruh Waktu Inokulasi dan Jumlah Inokulum Terhadap Patogenisitas *Phytophthora nicotianae* pada Bibit Tembakau. *Tanaman Tembakau, Serat dan Minyak Industri*, Vol. 2(2):75-80
- Isabelle L dan André L. 2006. Quantitative Prediction of Microbial Behaviour during Food Processing Using an Integrated Modelling Approach. *a review. Int. J. Ref.* Vol.29: 968-984.
- Jin, F, Ding, Y, Ding, W, Reddy, M, S, Fernando, W, G, D dan Du, B. 2011. Genetic Diversity and Phylogeny of Antagonistic Bacteria against *Phytophthora nicotianae* Isolated from Tobacco Rhizosphere. *Molecular Sciences*, Vol.12:3055–3071
- Leisinger, T dan Margrafft, R. 1979. Secondary Metabolites of the Fluorescent Pseudomonads. *Microbiological reviews*, Vol. 4(3):422-442
- Lengeler, J. 1999. *Biology of The Prokaryotes*. Georg Thiem Verlag. Jerman
- Madigan, M. T., Clark, D. P., Stahl, D dan Martinko, J. M. (2011). *Brock Microbiology of microorganisms*. San Francisco: Benjamin Cummings publishing.
- Malathi, P dan Viswanathan, R. 2013. Role of Microbial Chitinase in the Biocontrol of Sugarcane Red Rot Caused by *Colletotrichum falcatum* Went. *EJBS*, Vol. 6(1):17-23
- Maurya, M, K, Singh, R dan Tomer, A. 2014. In vitro evaluation of antagonistic activity of *Pseudomonas fluorescens* against fungal pathogen. *Biopest*, Vol.7(1):43-46
- McDade, J, J dan Hall, L, B. 1964. Survival of Gram-Negative Bacteria in The Environment. *Am.J.Hro*, Vol.80:192-204
- Meena, B. 2014. Biological Control of Pest and Diseases Using Fluorescent Pseudomonads. *Basic and Applied Aspects of Biopesticides*, DOI 10.1007/978-81-322-1877-7\_2[Serial online][12 Desember 2016]

- Melliawati, R, Widyaningrum, D, N, Djohan, A, C dan Sukiman H. 2006. Pengkajian Bakteri Endofit Penghasil Senyawa Bioaktif untuk Proteksi Tanaman. *Biodiversitas*, Vol.7(3):221-224
- Nafiu, L, O dan Pagala, M, A. 2010. Pemberian Keong Mas (*Pomacea* sp) dalam Pakan terhadap Penampilan Itik Bali dan Itik Tegal. *Agriplus*, Vol. 20(1):36-41
- Noori, M, S, S dan Saud, H, M. 2012. Potential Plant Growth-Promoting Activity of *Pseudomonas* sp Isolated from Paddy Soil in Malaysia as Biocontrol Agent. *Plant Pathology and Microbiologi*, Vol.3(2):120.
- Novitsky, J. A., dan R. Y. Morita. 1976. Morphological characterization of small cells resulting from nutrient starvation of a psychrophilic marine vibrio. *Appl. Environ. Microbiol*, Vol.32(4):617-662
- O'sullivant, D, J dan O'gara, F. 1992. Traits of Fluorescent *Pseudomonas* spp. Involved in Suppression of Plant Root Pathogens. *Microbiological reviews*, Vol. 56(4):662-676
- Pagala, M, A. 2010. Efek Suplementasi Kitosan terhadap Performans Itik Petelur. *Agriplus*, Vol. 20(3):199-204
- Palupi, R. 2007. Pengaruh Pengolahan Limbah Udang Terhadap Nilai Gizi dan Daya Cerna Proteinnya. Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner. Palembang: Universitas Sriwijaya.
- Prabowo, A, F. 2015. Kajian Jenis Limbah dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta*. Skripsi. Jember: sekolah sarjana Universitas Negeri Jember
- Ramyasmruthi, S, Pallavi, O, Pallavi, S, Tilak, K dan Srividya, S. 2012. Chitinolytic and secondary metabolite producing *Pseudomonas fluorescens* isolated from Solanaceae rhizosphere effective against broad spectrum fungal phytopathogens. *Plant Science and Research*, Vol. 2(1):16-24
- Reddy, P, P. 2014. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria fir Horticultural Crop Protection*. India: Springer.
- Roeswitawati, D, I. R. Sastrahidayat, Suwarsi dan A. L. Abadi. 2004. Pengaruh Tanah Suppressive terhadap Patogen *P.parasitica* var *nicotianae* Penyebab Penyakit Lanas pada Tanaman Tembakau. Prosiding Sidang Fitopatologi. Malang. Hal.59-77
- Semangun, H. 2000. *Penyakit-penyakit Tanaman Perkebunan di Indonesia*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press

- Sriharti, Salim, T dan Sukirno. 2004. Teknologi Penanganan Limbah Cair Tahu. Prosiding Seminar Nasional Rekayasa Kimia dan Proses. LIPI. UPT Balai Pengembangan Teknologi Tepat Guna.
- Suptijah, P, Jacob, A, M dan Deviyanti, N. 2012. Karakterisasi dan Bioavailabilitas Nanokalsium Cangkang Udang Vannamei (*Litopenaeus vannamei*). *Akuatika*, Vol. 3(1):63-73
- Torrella, F., dan R. Y. Morita. 1981. Microcultural study of bacterial size changes and microcolony and ultramicrocolony formation by heterotrophic bacteria in sea water. *Appl. Environ. Microbiol.* Vol.41:518-527.
- Yuda, S, Wardiyanto, dan Santoso, L. 2014. Efektifitas Pemberian Tepung Usus Ayam terhadap Pertumbuhan Lele Sangkuriang (*Clarias gariepinus*). *Rekayasa dan Teknologi Budidaya Perairan*, Vol. 3(1):351-358
- Yustianti, Ibrahim, M, N dan Ruslaini. 2013. Pertumbuhan dan Sintasan Larva Udang Vaname (*Litopenaeus vannamei*) Melalui Substitusi Tepung Ikan dengan Tepung Usus Ayam. *Mina Laut Indonesia*, Vol. 1(1):93-103

## LAMPIRAN

## 1. Hasil Analisis Uji Populasi

## MINGGU 0

## ANOVA

FK= 1.555,83

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	0.01	0.00	0.15	tn	3.06	4.89
Error (Galat)	15	0.15	0.01				
<b>TOTAL</b>	19	1.16					

CV=1.13

## MINGGU 1

## ANOVA

FK= 5.732,04

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	0.14	0.03	0.98	tn	3.06	4.89
Error (Galat)	15	0.52	0.03				
<b>TOTAL</b>	19	0.66					

CV=1.02

## MINGGU 3

## ANOVA

FK= 8771.89

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	0.23	0.06	1.02	tn	3.06	4.89
Error (Galat)	15	0.83	0.06				
<b>TOTAL</b>	19	1.06					

CV=1.17

**MINGGU 5**

**ANOVA**

**FK= 6.366,99**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	30.99	7.75	33.95	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	3.42	0.23				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>34.41</b>					

**CV=2.69**

Perlakuan	Rataan	19.82	18.08	17.75	17.65	15.91	Notasi
<b>P2</b>	19.82	0 tn					a
<b>P4</b>	18.08	1.74*	0 tn				b
<b>P1</b>	17.75	2.07*	0.33 tn	0 tn			b
<b>P0</b>	17.65	2.17*	0.43 tn	0.1 tn	0 tn		b
<b>P3</b>	15.91	3.91*	2.17*	1.84*	1.74*	0 tn	c
<b>P</b>			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			0.79	0.78	0.76	0.72	
<b>KTG</b>	0.23						

**MINGGU 7**

**ANOVA**

**FK= 3.696,46**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	44.02	11.01	58.86	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	2.8	0.19				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>46.83</b>					

**CV=3.21**

Perlakuan	Rataan	15.19	14.88	13.63	13.27	11.01	Notasi
<b>P3</b>	15.19	0 tn					a
<b>P1</b>	14.88	0.31 tn	0 tn				a
<b>P4</b>	13.63	1.56*	1.25*	0 tn			b
<b>P2</b>	13.27	1.92*	1.61*	0.36 tn	0 tn		b
<b>P0</b>	11.01	4.18*	3.87*	2.62*	2.26*	0 tn	c
<b>P</b>			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			0.72	0.7	0.68	0.65	
<b>KTG</b>	0.19						

**MINGGU 9**

**ANOVA**

**FK= 1.330,39**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	11.3	2.82	23.68	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	1.79	0.12				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>13.08</b>					

**CV=4.25**

Perlakuan	Rataan	9.22	8.76	8.09	7.50	7.21	Notasi
P3	9.22	0 tn					a
P4	8.76	0.46 tn	0 tn				a
P1	8.09	1.13*	0.67*	0 tn			b
P2	7.50	1.72*	1.26*	0.59*	0 tn		c
P0	7.21	2.01*	1.55*	0.88*	0.29 tn	0 tn	c
<b>P</b>			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			0.57	0.56	0.55	0.52	
<b>KTG</b>	0.12						

**MINGGU 11**

**ANOVA**

**FK= 938.39**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	15.34	3.84	24.29	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	2.37	0.16				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>17.71</b>					

**CV=5.84**

Perlakuan	Rataan	7.95	7.73	6.79	5.93	5.85	Notasi
P2	7.95	0 tn					a
P3	7.73	0.22 tn	0 tn				a
P1	6.79	1.16*	0.94*	0 tn			b
P4	5.93	2.02*	1.8*	0.86*	0 tn		c
P0	5.85	2.1*	1.88*	0.94*	0.08 tn	0 tn	c
<b>P</b>			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			0.66	0.65	0.63	0.60	
<b>KTG</b>	0.16						

## 2. Hasil Analisis Daya Antagonis

### MINGGU 1

#### ANOVA

FK = 87.880,65

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	65.87	16.47	3.94	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	62.73	4.18				
<b>TOTAL</b>	19	128.59					

CV = 3.08%

Perlakuan	Rataan	68.00	67.50	66.91	66.16	62.87	Notasi
P2	68	0 tn					b
P3	67.50	0.5 tn	0 tn				b
P0	66.91	1.09 tn	0.59 tn	0 tn			b
P3	66.16	1.84 tn	1.34 tn	0.75 tn	0 tn		b
P1	62.87	5.13 *	4.63 *	4.03*	3.28*	0 tn	a
P			5	4	3	2	
SSR 5%			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJI D 5%			3.08	3.23	3.32	3.38	
KTG	4.18						

### MINGGU 3

#### ANOVA

FK = 77.325,80

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	14.96	3.74	0.54	tn	3.06	4.89
Error (Galat)	15	103.83	6.92				
<b>TOTAL</b>	19	118.79					

CV = 4.23%



**MINGGU 5**

**ANOVA**

**FK = 70.538,69**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	724.78	181.19	3.80	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	715.35	47.69				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>1440.13</b>					

CV = 11.63%

Perlakuan	Rataan	67.19	63.10	59.84	57.57	49.24	Notasi
P4	67.19	0 tn					b
P1	63.10	4.09 tn	0 tn				b
P3	59.84	7.35 tn	3.26 tn	0 tn			b
P0	57.57	9.62 tn	5.53 tn	2.27 tn	0 tn		ab
P2	49.24	17.95*	13.86*	10.6*	8.33*	0 tn	a
			5	4	3	2	
SSR 5%			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJI D 5%			10.39	10.91	11.22	11.43	
KTG	47.69						

**MINGGU 7**

**ANOVA**

**FK = 63.317,26**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	1663.07	415.77	17.61	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	354.23	23.62				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>2017.30</b>					

CV = 8.64%

Perlakuan	Rataan	70.22	60.53	54.95	53.22	42.41	Notasi
P4	70.22	0 tn					d
P3	60.53	9.70*	0 tn				b
P1	54.95	15.27*	5.58 tn	0 tn			b
P0	53.22	17.00*	7.30 tn	1.73 tn	0 tn		b
P2	42.41	27.81*	18.1*	12.54*	10.81*	0 tn	a
			5.00	4.00	3.00	2.00	
SSR 5%			3.31	3.25	3.16	3.01	
UJI D 5%			7.31	7.68	7.90	8.04	
KTG	23.62						

**MINGGU 9**

**ANOVA**

**FK = 31.924,05**

Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	753.41	188.35	5.39	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	523.98	34.93				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>1277.39</b>					

CV = 14.79%

Perlakuan	Rataan	48.85	44.64	37.63	37.37	31.28	Notasi
<b>P4</b>	<b>48.85</b>	0 tn					d
<b>P2</b>	<b>44.64</b>	4.21 tn	0 tn				b
<b>P3</b>	<b>37.63</b>	11.22*	7.01 tn	0 tn			ab
<b>P0</b>	<b>37.37</b>	11.48*	7.26 tn	0.26 tn	0 tn		ab
<b>P1</b>	<b>31.28</b>	17.57*	13.36*	6.35 tn	6.10 tn	0 tn	a
			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			8.90	9.34	9.60	9.78	
<b>KTG</b>	34.93						

**MINGGU 11**

**ANOVA**

**FK = 22.978,10**

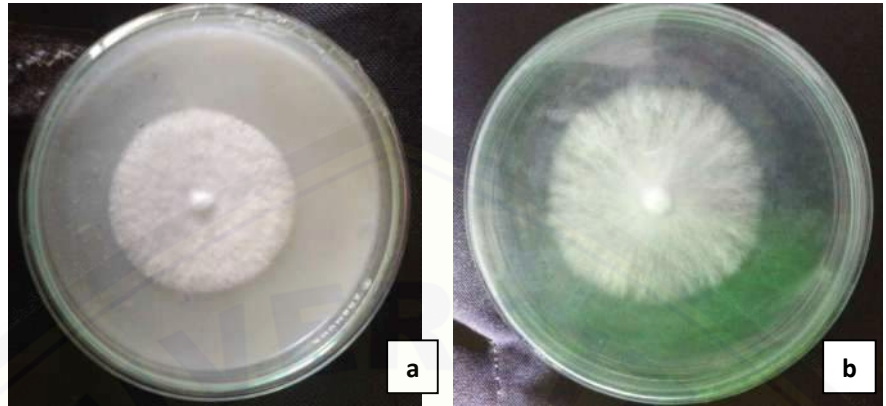
Sumber Keragaman	db	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	F Hitung	Notasi	F-Tabel 5%	F-Tabel 1%
Perlakuan	4	1283.35	320.84	21.34	**	3.06	4.89
Error (Galat)	15	225.55	15.04				
<b>TOTAL</b>	<b>19</b>	<b>1508.91</b>					

CV = 11.44%

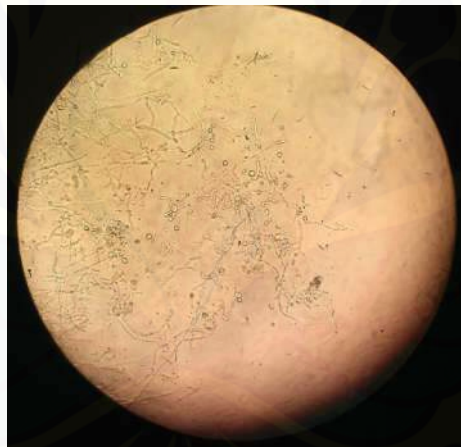
Perlakuan	Rataan	49.31	32.14	32.10	29.79	26.14	Notasi
<b>P4</b>	<b>49.31</b>	0 tn					d
<b>P1</b>	<b>32.14</b>	17.17*	0 tn				b
<b>P0</b>	<b>32.10</b>	17.21*	0.05 tn	0 tn			b
<b>P3</b>	<b>29.79</b>	19.52*	2.35 tn	2.31 tn	0 tn		ab
<b>P2</b>	<b>26.14</b>	23.17*	6.00*	5.96*	3.65 tn	0 tn	a
			5	4	3	2	
<b>SSR 5%</b>			3.31	3.25	3.16	3.01	
<b>UJI D 5%</b>			5.84	6.13	6.30	6.42	
<b>KTG</b>	15.04						

### 3. Dokumentasi Kegiatan

#### *Phytophthora nicotianae*

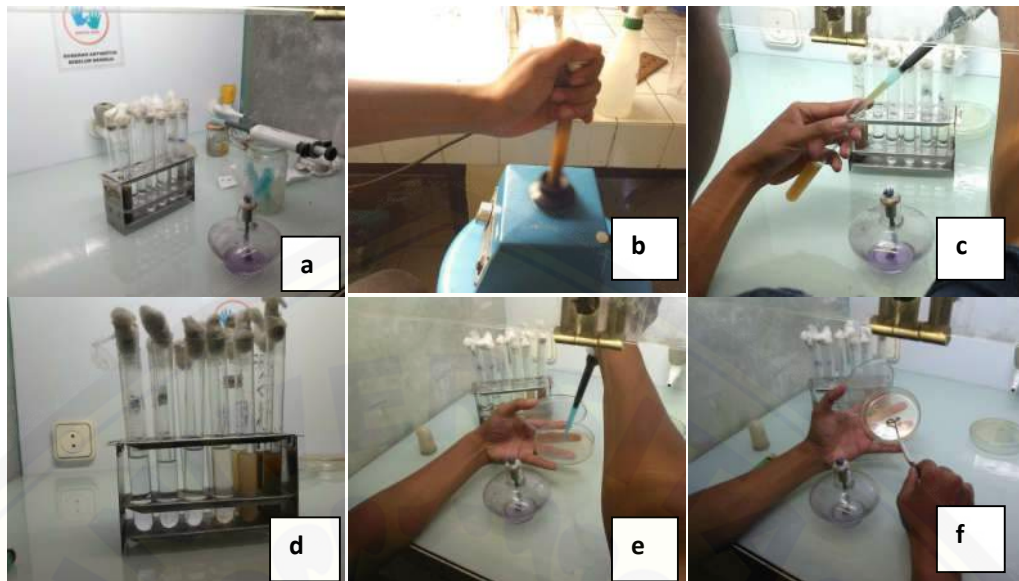


Gambar 1. a. Cendawan patogen *P. nicotianae* pada media Oatmeal Agar(OMA),  
b. Cendawan patogen *P. nicotianae* pada media Potato Dextrose Agar(PDA)



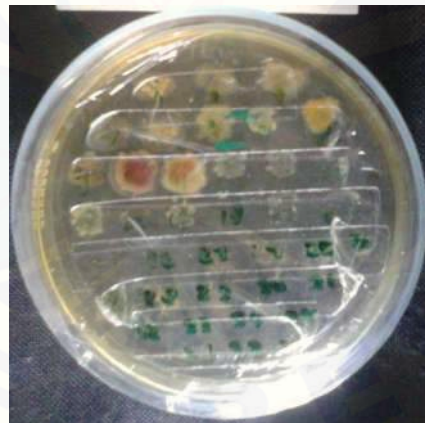
Gambar 3. Pengamatan mikroskop perbesaran 40X

### Isolasi Bakteri *Pseudomonas* pendarfluor



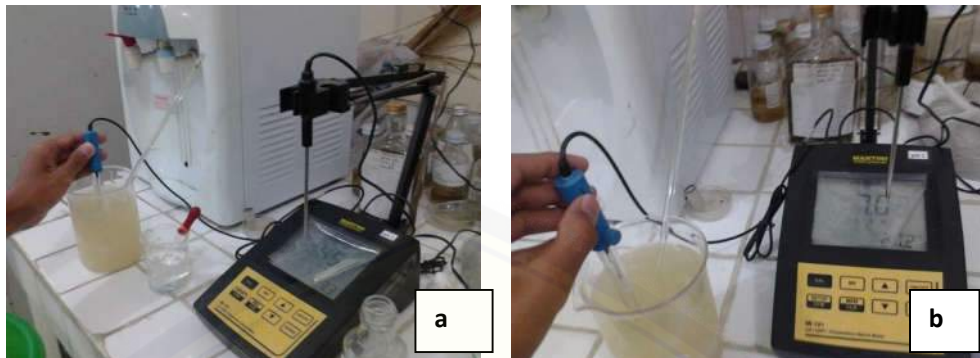
Gambar 4. a. Alat dan bahan isolasi bakteri *Pseudomonads fluorescens*, b. Melarutkan tanah sumber isolat bakteri *Pseudomonads fluorescens*, c. Mengambil suspensi tanah untuk dilakukan pengenceran, d. Hasil pengenceran tanah sumber isolate, e. Menuangkan hasil pengenceran pada media tumbuh King's B Agar, f. Meratakan dengan menggunakan *spreader*

### Hasil Isolasi Bakteri *Pseudomonads fluorescens*



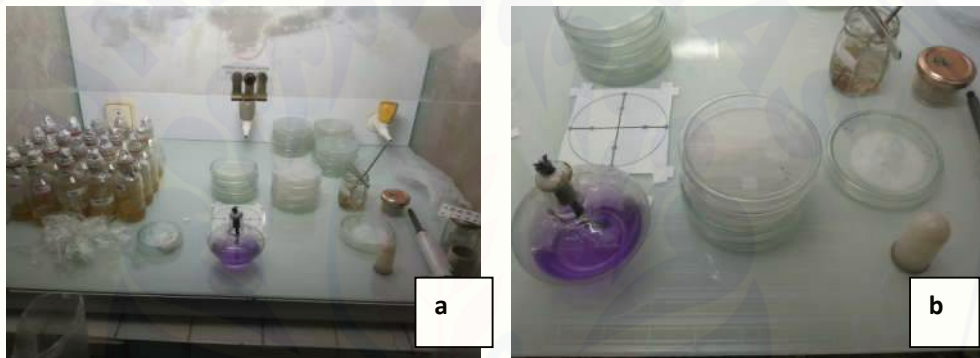
Gambar 5. Hasil isolasi bakteri *Pseudomonads fluorescens* pada tanaman tomat

### Pengukuran pH Larutan Media Biakan Bakteri



Gambar 6. a. Pengukuran pH larutan media biakan bakteri *Pseudomonads fluorescens*,  
b. Hasil penyesuaian pH larutan media

### Uji Hambat



Gambar 7. a. Alat dan bahan uji hambat bakteri *Pseudomonads fluorescens* terhadap *P. nicotianae*, b. Hasil pengujian daya hambat bakteri *Pseudomonads fluorescens* terhadap *P. nicotianae*