

**PEMBIAKAN *Bacillus subtilis* DAN *Pseudomonas aeruginosa*
PADAMEDIA LIMBAH PERIKANAN DAN UJI ANTAGONISNYA
TERHADAP CENDAWAN *Rhizoctonia* sp. DAN *Fusarium* sp.**

*Cultivation of *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* in Fisheries
Waste Media and Antagonistic Test Against *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp.*

**Ananta Kusuma Amanda¹, Andrea Ajeng Eirenne Kristianti², Libranika Dwi
Miswati³, Elis Nina Herliyana⁴, Lutfi Hanafi⁵, Rizki Nugraheni Amaliasuci⁶**
^{1,2,3,4}Departemen Silvikultur Fakultas Kehutanan dan Lingkungan Institut Pertanian

Bogor

⁵Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut
Pertanian Bogor

⁶Departemen Biokimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut
Pertanian Bogor

ABSTRACT. Sustainable forest management as a complete ecosystem has problems that are often detrimental to the economy and ecology, one of which is disease. Some examples of pathogens that attack forestry plants are *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp. which cause leaf blight. An alternative to control it is using chitinolytic bacteria as biological agents which are cultured in fishery waste media. This research aims to (1) determine the appropriate formulation of fish waste as a growth medium for chitinolytic bacteria and (2) determine the ability of the antagonist test of chitinolytic bacteria in inhibiting the growth of pathogenic fungi causing leaf blight. The steps used consisted of (1) media preparation, (2) bacterial and fungal rejuvenation, (3) bacterial culturing in fishery waste media, (4) *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* antagonist tests against the fungus *Rhizoctonia* sp. and *Fusarium* sp., and (5) primary data analysis using OpenCFU and SAS applications. The result shows that the best fish waste formulation for growing chitinolytic bacteria was CR:KU:SI (2:1:1) with an average colony of 285 colonies for *B. subtilis* and 202 colonies for *P. aeruginosa*. The results of Anova analysis showed that the media formulation treatment has a significant effect on the growth of *B. subtilis* and *P. aeruginosa* bacterial colonies. The results of the in vitro antagonist test shows that the growth of *Rhizoctonia* sp could not be inhibited by the bacterium *Pseudomonas aeruginosa*. While the results of the antagonist test on *Fusarium* sp. shows if the P-value obtained is $p > 0,05$, which means the data is not normally distributed or there is no effect of the application of *B. subtilis* and *P. aeruginosa* bacteria in inhibiting the growth rate of *Fusarium* sp.

Keywords: *Bacillus subtilis*; *Fusarium* sp; *Pseudomonas aeruginosa*; *Rhizoctonia* sp.

ABSTRAK. Pengelolaan hutan lestari sebagai suatu ekosistem yang utuh memiliki permasalahan yang kerap merugikan secara ekonomi maupun ekologi, salah satunya adalah serangan penyakit. Beberapa contoh patogen yang menyerang tanaman kehutanan adalah *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. yang mengakibatkan penyakit hawar daun. Alternatif pengendalian penyakit ini adalah menggunakan bakteri kitinolitik sebagai agen biologis yang dibiakkan dalam media limbah perikanan. Riset ini bertujuan untuk (1) menentukan formulasi limbah perikanan yang tepat sebagai media pertumbuhan bakteri kitinolitik serta (2) mengetahui kemampuan uji antagonis dari bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen penyebab penyakit hawar daun. Tahapan yang digunakan dalam penelitian terdiri atas (1) penyiapan media, (2) peremajaan bakteri dan cendawan, (3) pembiakan bakteri pada media limbah perikanan, (4) uji antagonis *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* terhadap cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp., serta (5) analisis data primer menggunakan aplikasi OpenCFU dan SAS. Hasil penelitian menunjukkan bahwa formulasi limbah perikanan terbaik untuk menumbuhkan bakteri kitinolitik yaitu CR:KU:SI (2:1:1) dengan rata-rata koloni masing-masing 285 koloni untuk *B. subtilis*

dan 202 koloni untuk *P. aeruginosa*. Hasil analisis anova menunjukkan perlakuan formulasi media berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan koloni bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa*. Hasil uji antagonis secara in-vitro menunjukkan bahwa pertumbuhan *Rhizoctonia* sp dapat dihambat oleh *Bacillus subtilis* secara signifikan tetapi tidak dapat dihambat oleh bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan hasil uji antagonis pada *Fusarium* sp. menunjukkan jika nilai P-value yang diperoleh adalah $p > 0,05$ yang berarti data tidak terdistribusi normal atau tidak ada pengaruh pengaplikasian bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* dalam penghambatan laju pertumbuhan *Fusarium* sp.

Kata kunci: *Bacillus subtilis*; *Fusarium* sp; *Pseudomonas aeruginosa*; *Rhizoctonia* sp.

PENDAHULUAN

Budidaya tanaman hutan tidak terlepas dari kendala utama sejak tanaman berada di persemaian hingga tanaman dewasa, yakni serangan hama dan penyakit. Salah satu penyakit yang menyerang tanaman kehutanan khususnya pada penerapan sistem tanam monokultur adalah penyakit hawar daun yang disebabkan oleh cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. *Rhizoctonia* sp. merupakan patogen penting yang memiliki inang cukup luas dan dapat menyerang tanaman saat di persemaian maupun saat dipindah tanam ke lapang sehingga dapat menurunkan produktivitas. Achmad dan Maisaroh (2004) menemukan bahwa *Rhizoctonia* sp. yang lebih dikenal sebagai salah satu patogen lodoh pada semai tanaman kehutanan nyatanya menunjukkan pula bahwa cendawan ini juga dapat mengakibatkan penyakit hawar daun. Sementara itu, *Fusarium* sp. dikenal sebagai cendawan tular tanah yang terdistribusi secara luas dan dapat berasosiasi dengan berbagai jenis tanaman terutama pada tanaman budidaya (Izzati *et al.* 2009).

Beberapa laporan terkait serangan cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. terjadi pada beberapa spesies. Hidayati (2018) menyebut bahwa *Fusarium* sp. dan *Rhizoctonia solani* menyerang semai kaliandra. Fauziyyah (2015) menyebut bahwa *Rhizoctonia* sp. juga telah ditemukan sebagai penyebab *damping-off* pada semai sengon di Persemaian Permanen IPB. Cendawan *Fusarium* sp. dan *Rhizoctonia* sp. memiliki kesamaan yakni keduanya tergolong dalam patogen tular tanah (*soil borne pathogen*) yang mampu bertahan hidup relatif lama dalam tanah dengan membentuk miselium, konidia, atau spora yang mudah terbawa angin pada cendawan *Fusarium* sp., serta membentuk sklerotium dan miselium bagi cendawan *Rhizoctonia* sp. (Soenartiningih *et al.* 2015 dan Soenartiningih *et al.* 2016).

Pengendalian hama dan penyakit hutan terpadu merupakan salah satu strategi yang diterapkan untuk mewujudkan pengelolaan hutan lestari. Pengendalian hayati dengan menggunakan agensia antagonis merupakan alternatif yang saat ini banyak diteliti dan dikembangkan sebagai pengendali patogen tanaman. Pengendalian hayati adalah suatu teknik pengendalian organisme pengganggu tanaman dengan memanfaatkan potensi agen pengendali alami, seperti bakteri, jamur, dan nematoda entomopatogen, agar tidak mencapai batas populasi yang merugikan (Wardati *et al.* 2013). Amaria *et al.* (2013) mengemukakan bahwa agensia hayati antagonis dapat menekan inokulum, mencegah kolonisasi, melindungi perkecambahan biji dan akar tanaman dari infeksi patogen, menghambat patogen dengan sekresi antibiotik, dan menginduksi proses ketahanan tanaman.

Salah satu agensia hayati yang dapat dimanfaatkan untuk mengendalikan penyakit hawar daun adalah bakteri kitinolitik yang memiliki enzim kitinase untuk mendegradasi zat kitin penyusun dinding sel cendawan patogen. Bakteri kitinolitik dapat diisolasi dari media atau tempat yang memiliki senyawa kitin seperti limbah sisik ikan dan cangkang krustasea. Industri pengolahan perikanan pada proses produksinya menghasilkan limbah dalam jumlah yang melimpah sehingga sangat berpotensi untuk diolah menjadi media alternatif kitin komersial. Suryanto *et al.* (2011) melaporkan bahwa isolate bakteri kitinolitik mampu menghambat pertumbuhan beberapa cendawan patogen, seperti *Fusarium oxysporum*, *Ganoderma boninense*, dan *Penicillium semitectum* secara in vitro. *Bacillus* sp., dan *Pseudomonas aeruginosa* merupakan contoh bakteri kitinolitik dan dilaporkan oleh Zuraidah *et al.* (2020) mampu menghambat pertumbuhan cendawan patogen penyakit Blas. Penelitian

ini bertujuan untuk (1) menentukan formulasi limbah perikanan yang tepat sebagai media pertumbuhan bakteri kitinolitik serta (2) mengetahui kemampuan uji antagonis dari bakteri kitinolitik dalam menghambat pertumbuhan cendawan patogen penyebab penyakit hawar daun.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dari tanggal 1 Juni 2021 sampai dengan 20 September 2021 secara empirik dengan kegiatan *blended* (luring dan daring). Kegiatan luring dilaksanakan dengan menerapkan protokol kesehatan COVID-19 di Laboratorium Patologi Hutan Fakultas Kehutanan dan Lingkungan IPB University Bogor. Kegiatan daring dilaksanakan melalui virtual meeting dengan aplikasi Zoom serta analisis data menggunakan aplikasi OpenCFU (versi 3.9.0), SAS dan Microsoft Excel. Alat yang digunakan dalam Penelitian ini diantaranya *laminar air flow*, autoklaf dan mikroskop. Bahan yang digunakan dalam Penelitian ini diantaranya kultur bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* yang didapatkan dari IPB Culture Collection (IPBCC), kultur cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. yang didapatkan dari koleksi Laboratorium Patologi Hutan Fakultas Kehutanan dan Lingkungan IPB University, limbah perikanan berupa cangkang rajungan, kulit udang dan sisik ikan yang didapatkan dari pasar ikan di sekitar Bogor, *Tryptic Soy Agar/TSA*, *Malt Extract Agar/MSA* dan agar varian *plain* (Swallow).

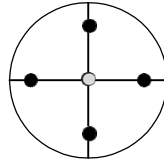
Kultur yang akan digunakan diremajakan secara berkala dalam media TSA (bakteri) dan media MSA (cendawan) untuk menjaga kualitasnya. Sebelum digunakan, media disterilisasi terlebih dahulu menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Formulasi media kitin dari limbah perikanan dibuat dengan cangkang rajungan, kulit udang dan sisik ikan yang ditumbuk hingga bubuk halus kemudian dicampurkan dengan agar dan direbus hingga mendidih. Formulasi perlakuan yang dibuat yaitu: 1. cangkang rajungan:kulit udang (1:1); 2. cangkang rajungan:sisik ikan (1:1); 3. cangkang rajungan:sisik ikan:kulit udang (2:1:1); dan 4. media TSA (kontrol). Larutan formulasi media masing-masing dituangkan ke dalam tiga cawan Petri dan dibiarkan selama satu hari.

Bakteri yang telah diremajakan dikultur pada media formulasi. Sebanyak satu ose isolat bakteri diambil dan dilarutkan dalam tabung reaksi berisi 10 mL akuades. Bakteri diencerkan dengan pelarutan sebesar 10⁻⁴. Pengenceran dilakukan dengan mengambil 1 mL larutan bakteri menggunakan pipet lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL. Setelah pengenceran ke 4, 1 mL larutan bakteri dipipet ke dalam masing-masing cawan Petri berisi media formulasi dan TSA. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Cawan Petri kemudian ditutup dan dirapatkan dengan plastik wrap. Setelah dibiarkan selama 1 hari, koloni bakteri difoto dan dihitung menggunakan aplikasi OpenCFU. Banyak bakteri dinyatakan sebagai *Colony Forming Unit* dan dihitung dengan rumus Soesetyaningsih dan Azizah (2020).

$$\text{Banyak bakteri (CFU/mL)} = \text{banyak koloni} \times \frac{1}{\text{Pengenceran}}$$

Cendawan hasil peremajaan dilubangi menggunakan cork boarer lalu dipindahkan ke dalam cawan Petri berisi PDA. Setiap cawan Petri berisikan 4 cendawan di tepi dengan 1 ose bakteri di bagian tengah. Jarak cendawan dengan bakteri yaitu masing-masing 3 cm. Prosedur inokulasi cendawan dan bakteri ke media PDA dibantu oleh laboran. Setiap perlakuan dan kontrol dilakukan sebanyak 5 kali ulangan. Posisi peletakan dilakukan seperti Gambar 2. Persentase penghambatan dihitung dengan rumus Montealegre *et al.*, (2003). Persentase daya hambat dihitung dari nilai satu dikurangi perbandingan dari pertumbuhan cendawan perlakuan dan pertumbuhan cendawan kontrol dikali seratus persen

$$\text{Daya hambat (\%)} = \left(1 - \frac{\text{pertumbuhan cendawan perlakuan}}{\text{pertumbuhan cendawan kontrol}} \right) \times 100\%$$



Gambar 1. Peletakan cendawan (hitam) dan bakteri (abu-abu) pada cawan Petri (Hidayah dan Yulianti, 2015).

Pengamatan struktur hifa secara mikroskopis dilakukan saat uji antagonis *in-vitro* dengan mengamati ujung miselium pada daerah zona hambat cendawan patogen. Ujung miselium dibuat sumuran kemudian dipindah ke gelas objek dengan teknik preparat Riddle.

Analisis data koloni bakteri pada media limbah perikanan dilakukan menggunakan aplikasi OpenCFU. Data koloni bakteri dan data hasil uji antagonis dianalisis dengan ANOVA dan apabila terdapat perbedaan yang nyata akan dilanjutkan dengan uji beda Duncan menggunakan aplikasi SAS.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Formulasi Media Pertumbuhan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa*

Pembiakan bakteri dalam media limbah perikanan membentuk zona bening di sekitar biakan yang menunjukkan bahwa bakteri mampu tumbuh pada media tersebut serta mampu mengasimilasi kitin sebagai sumber karbon dan nitrogennya. Zona bening dihasilkan dari sel bakteri yang memproduksi enzim kitinase untuk memecah makromolekul kitin menjadi molekul kitin yang lebih sederhana sehingga bakteri dapat mengambil nutrisi dalam bentuk molekul-molekul kecil (Soeka dan Triana 2016).



Gambar 2. Pengamatan perkembangan bakteri pada media formulasi (1) dan hasil analisis menggunakan aplikasi Open CFU (2).

Formulasi media limbah perikanan yang menghasilkan biakan bakteri dengan aktivitas kitinolitik tertinggi yaitu formulasi cangkang rajungan : kulit udang : sisik ikan (2:1:1) untuk kedua bakteri dengan rata-rata koloni masing-masing 285 koloni untuk *B. subtilis* dan 202 koloni untuk *P. aeruginosa* (Gambar 3). Rata-rata koloni kedua bakteri pada formulasi ini masih di bawah rata-rata koloni pada media TSA (kontrol) yaitu masing-masing 556 koloni untuk *B. subtilis* dan 536 koloni untuk *P. aeruginosa*. Sedangkan formulasi cangkang rajungan dan kulit udang 1:1 menunjukkan rata-rata koloni paling rendah untuk kedua bakteri yaitu masing-masing 70,33 koloni untuk *B. subtilis* dan 20,33 koloni untuk *P. aeruginosa*.

Tabel 1. Hasil perhitungan jumlah koloni bakteri menggunakan Open CFU.

Formulasi	Ulangan	<i>Bacillus subtilis</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
		Banyak Koloni	Rata-Rata Koloni	Jumlah Bakteri (CFU/mL)	Banyak Koloni	Rata-Rata Koloni	Jumlah Bakteri (CFU/mL)
CR:KU (1:1)	1	95	70,33c	0,70 x 10 ⁷	14	20,33c	0,20 x 10 ⁷
	2	65			31		
	3	51			16		
CR:SI (1:1)	1	256	218,00	2,18 x 10 ⁷	140	174,00b	1,74 x 10 ⁷
	2	228	b		152	c	
	3	170			230		
CR:KU:SI (2:1:1)	1	396	285,00	2,85 x 10 ⁷	253	202,33b	2,02 x 10 ⁷
	2	241	b		189		
	3	218			165		
TSA (kontrol)	1	636	556,33	5,56 x 10 ⁷	475	536,00a	5,36 x 10 ⁷
	2	468	a		726		
	3	565			404		

Keterangan: CR = cangkang rajungan; KU = kulit udang; SI = Sisik ikan; TSA = *tryptic soy agar*

Media campuran cangkang rajungan, kulit udang, dan sisik ikan dapat dimanfaatkan menjadi media pertumbuhan bakteri kitinolitik karena salah satu komponen penyusun eksoskeleton krustasea dan sisik ikan tersusun atas kitin. Cangkang rajungan memiliki senyawa kimia yang cukup banyak dengan 30-40% protein, 30-50% mineral (Haryati *et al.*, 2019), dan 20-30% kitin (Pandharipande dan Bhagat, 2016). Kulit udang memiliki komponen utama berupa 40-50% kitin (Islam *et al.*, 2016), serta sisik ikan yang sudah dikeringkan secara umum mengandung 33-45% kitin (Rumengan *et al.*, 2017). Secara umum bakteri memerlukan media yang mengandung sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, vitamin, atau bahan-bahan yang dapat mendorong pertumbuhan bakteri seperti ekstrak daging atau ragi.

Jumlah bakteri yang tumbuh pada media limbah perikanan belum dapat mengimbangi jumlah bakteri yang tumbuh pada media TSA. Perbedaan tersebut terjadi karena kandungan dari TSA yang lengkap seperti agar, tryptone, soytone, dan sodium chloride memberikan nutrisi langsung bagi bakteri, sehingga nitrogen tersedia bagi bakteri cukup melimpah sebagai sumber nutrisi (Dwinanti dan Tanbiyaskur, 2014). Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perbedaan formulasi media berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan koloni *B. subtilis* dan *P. aeruginosa*.

Uji Antagonis *In-vitro*

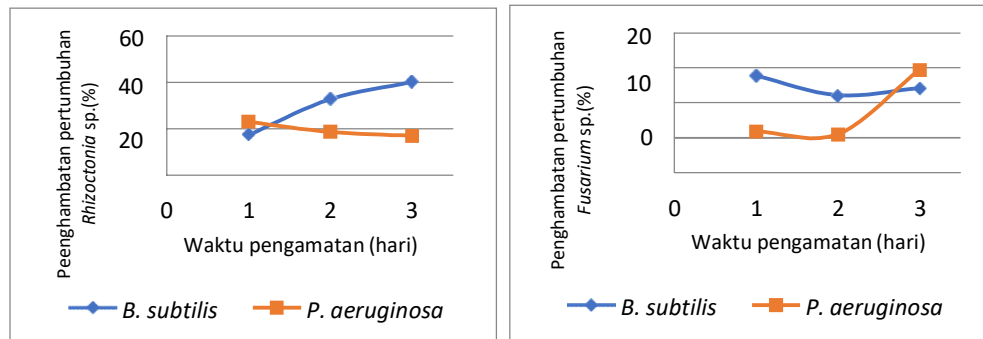
Uji antagonis dari 2 jenis bakteri kitinolitik yaitu bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* terhadap laju pertumbuhan cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. dilakukan selama 72 jam. Laju pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. dengan adanya *B. subtilis* mengalami pelambatan terbesar sebesar 8,97 mm/24 jam dibanding kontrol. Sementara itu, laju pertumbuhan *Fusarium* sp. mengalami pelambatan terbesar sebesar 10,18 mm/24 jam dengan adanya bakteri *P. aeruginosa* (Tabel 3).

Tabel 2. Laju pertumbuhan cendawan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. pada perlakuan pemberian *B. Subtilis* dan *P. aeruginosa*

Perlakuan	Laju pertumbuhan (mm/24 jam)	Perlakuan	Laju pertumbuhan (mm/24 jam)
<i>Rhizoctonia</i> sp. (kontrol)	15,00a	<i>Fusarium</i> sp. (kontrol)	11,26a
<i>Rhizoctonia</i> sp. + <i>B. subtilis</i>	8,97c	<i>Fusarium</i> sp. + <i>B. subtilis</i>	10,78a
<i>Rhizoctonia</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i>	12,45b	<i>Fusarium</i> sp. + <i>P. aeruginosa</i>	10,18a

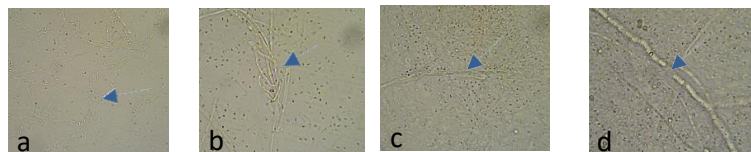
Bakteri *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. dengan rata-rata diameter cendawan pada akhir pengamatan sebesar 3,736 cm. Sementara itu, cendawan

kontrol mengalami pertumbuhan cendawan terbesar hingga 4,5 cm atau sudah memenuhi cawan Petri dalam waktu inkubasi 3 hari. Menurut David dan Stout, (1971), kemampuan antagonis bakteri tergolong kuat apabila diameter daya hambat mencapai 11-20 mm. Oleh sebab itu kemampuan antagonis *B. subtilis* terhadap *Rhizoctonia* sp tergolong kuat. Hasil analisis sidik ragam membuktikan jika pemberian bakteri *B. subtilis* dan *P. aeruginosa* terhadap pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. berpengaruh nyata pada taraf uji 5% tetapi tidak berpengaruh pada terhadap pertumbuhan *Fusarium* sp. Hasil analisis uji Duncan menunjukkan bahwa rata- rata diameter cendawan berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan pemberian bakteri kitinolitik.



Gambar 3 Grafik persentase daya hambat pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. dan *Fusarium* sp. oleh *B. subtilis* dan *P. aeruginosa*.

Selain memperlambat laju pertumbuhan, aplikasi *B. subtilis* mampu menghambat pertumbuhan *Rhizoctonia* sp. hingga 40,22% tetapi tidak terlalu berpengaruh pada *Fusarium* sp. yakni hanya sebesar 4,22% (Gambar 4). Hal tersebut tidak jauh berbeda dengan penelitian Hanif *et al.* (2012) yang juga menyebut bahwa pengurangan persentase bercak daun dengan bakteri *Bacillus* sp. BK13 mencapai 43,75%.



Gambar 4 Hifa abnormal *Rhizoctonia* sp dengan perlakuan *Bacillus subtilis*
Keterangan: (a) kerdil, (b) menggulung, (c) keriting, (d) membengkak dan lisis.

Aktivitas antagonis dari bakteri *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas aeruginosa* menyebabkan pertumbuhan hifa abnormal seperti hifa kerdil, hifa menggulung, hifa keriting, serta hifa membengkak dan lisis (Gambar 5). Tran *et al.* (2019) menyebutkan bahwa enzim kitinase yang dihasilkan bakteri kitinolitik mampu mengkatalisis hidrolisis ikatan β -1,4 homopolimer N-asetilglukosamin menjadi monomer N-asetilglukosamin yang menyebabkan terjadinya lisis pada dinding sel cendawan patogen.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Formulasi media terbaik untuk menumbuhkan bakteri kitinolitik yaitu campuran cangkang rajungan, kulit udang, serta sisik ikan pada perbandingan 2:1:1. Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri terhadap cendawan patogen tertinggi setelah pengamatan 72 jam yaitu

bakteri *Bacillus subtilis* yang mampu menghambat cendawan *Rhizoctonia* sp. dengan laju pertumbuhan cendawan terendah sebesar 8,97 mm/24 jam.

Saran

Formulasi media pembiakan bakteri perlu dikaji lebih lanjut mengenai penambahan nutrisi esensial lainnya yang dibutuhkan bakteri agar tumbuh secara optimal. Selain itu, diperlukan pengujian antagonis terhadap spesies cendawan patogen lainnya untuk mengetahui efektivitas kinerja bakteri kitinolitik dalam menekan pertumbuhan cendawan patogen.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Pendidikan Republik Indonesia yang telah memberikan bantuan dana penelitian sehingga penelitian ini dapat dilaksanakan sampai akhir. Tak lupa juga terima kasih kepada dosen pembimbing, Ibu Dr. Elis Nina Herliyana beserta rekan tim penelitian dari laboratorium Patologi Hutan Fakultas Kehutanan dan Lingkungan Institut Pertanian Bogor. Tanpa adanya pihak-pihak yang terlibat dan berkontribusi dalam penyusunan penelitian ini, penulis tidak akan mampu menyelesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

Achmad & Maisaroh, M. 2004. Identifikasi dan Uji Patogenisitas Penyebab Penyakit Hawar Daun pada Suren (*Toona sureni* Merr.). *Jurnal Manajemen Hutan Tropika*, 10(1): 67-75.

Amaria, W., Taufiq, E., & Harni, R. 2013. Seleksi dan Identifikasi Jamur Antagonis Sebagai Agens Hayati Jamur Akar Putih (*Rigidoporus microporus*) pada Tanaman Karet. *Buletin RISTRI*, 4(1): 55-64.

David, W.W. & Stout, T.R. 1971. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay I Factor Influencing Variability and Error. *Applied Microbiology*, 22: 659-665.

Dwinanti, S.H. & Tanbiyaskur. 2014. Rekayasa Media Padat Nonselektif untuk Bakteri Akuatik. *Jurnal Akuakultur Indonesia*, 13(2): 163-166.

Fauziyyah. 2015. *Identifikasi dan Patogenisitas Cendawan Penyebab Mati Pucuk pada Bibit Sengon (Paraserianthes falcataria (L.) Nielsen) dan Cabai (Capsicum sp.)*. Skripsi. Bogor: Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor.

Haryati, E., Dahlan, K., & Togibasa, O. 2019. *Protein and minerals analyses of mangrove crab shells (Scylla serrata) from Merauke as a foundation on bio-ceramic component*. Makalah disajikan dalam 7th Asian Physics Symposium, Merauke, 12 April.

Hidayati, N. 2018. Identifikasi Penyebab Penyakit Lodoh pada Semai Kaliandra. *Jurnal Pemuliaan Tanaman Hutan*, 12(2): 137-144.

Islam, S.Z., Khan, M., & Alam, A.K.M.N. 2016. Production of Chitin and Chitosan from Shrimp Shell Wastes. *Journal Bangladesh Agriculture*, 14(2): 253-259.

Izzati, N.A., Nordahliawate, S., Azliza, N., & Salleh, B. 2009. Distribution and Diversity of *Fusarium* Species Associated with Grasses in en States Throughout Peninsular Malaysia. *Journal Biotropia*, 16(2): 55-64.

Pandharipande, S.L. & Bhagat, P.H. 2016. Synthesis of Chitin from Crab Shells and Its Utilization in Preparation of Nanostructured film. *International Journal of Science, Engineering Technology and Research*, 5(5): 1378-1382.

Rumengan, I.F.M., Suptijah, P., Wullur, S., & Talumepa, A. 2017. Characterization of Chitin Extracted from Fish Scales of Marine Fish Species Purchased from Local Markets in North Sulawesi, Indonesia. *Earth and Environmental Science*, 89: 22-25.

Soeka, Y.S. & Triana, E. 2016. Pemanfaatan Limbah Kulit dang untuk Menghasilkan Enzim Kitinase dari *Streptomyces macrosporeus* InaCC A454. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 18(1): 91-101.

Soenartiningih, Akil M, Andayani NN. 2015. Cendawan tular tanah (*Rhizoctonia solani*) penyebab penyakit busuk pelepah pada tanaman jagung dan sorgum dengan komponen pengendaliannya. *Jurnal IPTEK Tanaman Pangan*. 10(2): 85-91.

Soenartiningih, Aqil, M., Andayani, N.N 2016. Strategi Pengendalian Cendawan *Fusarium* sp. dan Kontaminasi Mikotoksin pada Jagung. *Jurnal IPTEK Tanaman Pangan*, 11(1): 85-97.

Soesetyaningsih, E., & Azizah, A. 2020. Akurasi perhitungan bakteri pada daging sapi menggunakan metode hitung cawan. *Berkala Sainstek*, 8(3): 75-79.

Suryanto, D., Irawati, N., & Munir, E. 2011. Isolation and Characterization of Chitinolytic Bacteria and Their Potential to Inhibit Plant Pathogenic Fungi. *Microbiology Indonesia*, 5(3): 144-148.

Tran, T.N., Doan, C.T., Nguyen, M.T., Nguyen, V.B., Vo, T.P.K., Nguyen, A.D., & Wang, S.L. An Exochitinase with N-acetyl- β -glucosaminidase-like Activity from Shrimp Head Conversion by *Streptomyces* Speibonae and Its Application in Hydrolyzing β -chitin Powder to Produce N-acetyl-D-glucosamine. *Polymers*, 11: 1-14.

Wardati, I., Erawati, D.N., Triwidiarto, C., & Fisdiana, U. 2013. Potensi Pengendalian dengan Berbagai Agens Hayati pada Hama Penggerek Pucuk Kapas (*Gossypium hirsutum* L.). *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, 11(1): 81-88.

Zuraidah, Nida, Q., & Wahyuni, S. 2020. Uji Antagonis Bakteri Terhadap Cendawan Patogen Penyakit Blas. *Jurnal Biotik*, 8(1): 37-47.