

POTENSI *Bacillus licheniformis* DAN *Streptomyces olivaceoviridis* SEBAGAI PENGHAMBAT PERTUMBUHAN JAMUR *Saprolegnia* sp, PENYEBAB SAPROLEGNIASIS PADA IKAN SECARA IN VITRO

POTENTIAL OF *Bacillus licheniformis* AND *Streptomyces olivaceoviridis* AS INHIBITING THE GROWTH OF FUNGUS *Saprolegnia* sp, CAUSE SAPROLEGNIASIS ON FISH BY USING IN VITRO

Oktantia Frenny Anggani, Rahayu Kusdarwati dan Hari Suprpto

Fakultas Perikanan dan Kelautan Universitas Airlangga
Kampus C Mulyorejo - Surabaya, 60115 Telp. 031-5911451

Abstract

Saprolegniasis is a fungal disease on fish caused by *Saprolegnia* sp, which is saprophyte, damaging healthy tissue and makes the immune system in fish decreased. The uniqueness of *Saprolegnia* sp has the main components of the cell wall in the form of chitin that was instrumental in shaping the structure of the tip growth of fungal hyphae. Control of fungal pathogenic *Saprolegnia* sp can use chitinolytic microorganisms based on ability to produce chitinase for example using bacteria.

This study aims to potential of *Bacillus licheniformis* and *Streptomyces olivaceoviridis* as inhibiting the growth of fungus *Saprolegnia* sp, cause saprolegniasis on fish by using in vitro. The research method is experimental with completely randomized design (CRD), which consists of four treatments with five replications. The experimental used is A (*Saprolegnia* sp and *Bacillus licheniformis*), B (*Saprolegnia* sp and *Streptomyces olivaceoviridis*), C negative control (*Saprolegnia* sp) and D positive control (*Saprolegnia* sp and Ketokonazol 2 %). The main parameters measured were observed inhibition zone on each treatment. Supporting parameters were observed is an observation of abnormal hyphae structure after being induced by bacteria *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis*. Data were analyzed using analysis of variants (ANOVA) and to know the difference between treatments were determined by Tukey honestly significant difference (Tukey HSD) Test.

The results showed that the potential of chitinolytic *Bacillus licheniformis* can provide a good barrier of 4,62 cm by 5,48 cm compared *Streptomyces olivaceoviridis* in inhibiting the growth *Saprolegnia* sp. Suggestions in this research is the need to further research on the value of chitinase *Bacillus licheniformis* and *Streptomyces olivaceoviridis*. Further research by using in vivo.

Keywords : *Bacillus licheniformis*, *Streptomyces olivaceoviridis*, *Saprolegnia* sp, Inhibition Zone

Pendahuluan

Sebagai negara megabiodiversitas, Indonesia mempunyai potensi besar isolat yang dapat dimanfaatkan untuk kegiatan ilmu pengetahuan dan industri dengan memanfaatkan enzim-enzim kitinase yang tersebar mulai dari bakteri, fungi, serangga, tumbuhan, dan hewan yang sangat berpotensi menghasilkan kitin dan produk turunannya seperti kitosan (Haliza dan Suhartono, 2012). Kitin merupakan biopolimer alami kedua terbanyak setelah selulosa, merupakan komponen utama penyusun eksoskeleton Arthropoda dan dinding sel fungi (Kusumaningsih dkk, 2004). Kadar kitin dalam kulit udang dan kepiting diperkirakan mencapai 40-60 persen (Rahayu dan Purnavita, 2007) dan 22- 44 persen pada dinding sel fungi (Patil dkk 2000).

Pada masa sekarang, kitinase kembali menjadi perhatian karena adanya kemungkinan

penggunaan enzim ini dalam pengendalian biologi organisme yang mengandung kitin seperti jamur salah satunya *Saprolegnia* sp. Pengendalian hayati jamur dengan menggunakan mikroorganisme kitinolitik didasarkan pada kemampuan mikroorganisme menghasilkan kitinase dan β -1,4-glukanase yang dapat melisiskan sel jamur (El-Katany *et al.*, 2000). Bakteri kitinolitik dapat memecahkan dan mendegradasi kitin penyusun dinding sel fungi sehingga bakteri ini sangat potensial untuk menghambat pertumbuhan fungi patogen pada ikan (Muharni dan Widjajanti, 2011).

Penelitian penggunaan bakteri kitinolitik *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* untuk mencari solusi dalam mengatasi permasalahan akibat serangan jamur. Salah satunya dengan mengetahui potensi daya hambat *Bacillus*

licheniformis dan *Streptomyces olivaceoviridis* yang mengandung aktivitas enzim kitinase dalam menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp yang dilakukan secara in vitro.

Materi dan Metode

Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di laboratorium mikrobiologi Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya pada tanggal 05 Agustus sampai 10 September 2014.

Materi Penelitian

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah *laminary air flow*, *refrigerator*, inkubator, *autoclave*, labu *erlenmeyer*, tabung reaksi, *hotplate stirrer*, cawan Petri atau *Petri disk*, *obyek glass*, *sectio kit*, *cover glass*, bunsen, ose, mikroskop, pipet tetes, spatula, timbangan analitik, *aluminium foil*, kapas, alat tulis, kertas label dan kamera digital.

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian ini adalah alkohol 70%, minyak emersi, NaCl fisiologis, *lactophenol cotton blue*. Bahan pembuatan media PDA (*Potato Dextrose Agar*) adalah kentang, dextrose, agar-agar, akuades. Pembuatan media TSA (*Trypton Soya Agar*) adalah bubuk TSA dan akuades, sedangkan untuk pembuatan medium garam minimum kitin (MGMK) adalah K_2PO_4 , KH_2PO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $MnCl_2$, akuades, bacto agar, ekstrak khamir (*yeast extract*).

Metode Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental. Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rancangan acak lengkap (RAL) dengan empat perlakuan dan lima kali ulangan. Perlakuan yang digunakan yaitu A (*Saprolegnia* sp dan *Bacillus licheniformis*), B (*Saprolegnia* sp dan *Streptomyces olivaceoviridis*), C kontrol negatif (*Saprolegnia* sp) dan D kontrol positif (*Saprolegnia* sp dan Ketokonazol 2 %).

Prosedur Kerja

Tahap Pembuatan Medium Garam Minimum Kitin (MGMK)

Menurut Sembiring (2012), pembuatan medium garam minimum kitin adalah dengan mencampurkan 0,7 gram K_2PO_4 , 0,3 gram KH_2PO_4 , 0,5 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,01 gram $FeSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,001 gram $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,001 gram $MnCl_2$, 20 gram agar, 2 % ekstrak khamir (*yeast extract*) ke dalam Erlenmeyer yang berisi

1000 ml akuades kemudian media tersebut dihomogenkan dengan cara diaduk dan dipanaskan pada *hot plate stirrer*. Erlenmeyer tersebut di tutup dengan kertas aluminium foil dan karet gelang untuk di sterilkan. Media agar disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan satu atm.

Tahap Isolasi Bakteri Kitinolitik

Isolat bakteri *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* diperoleh di Laboratorium Bakteriologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Airlangga. Bakteri yang didapat diremajakan ke dalam media *Trypton Soya Agar* (TSA) selama 24 jam kemudian digunakan dalam perlakuan penelitian dan uji biokimia. Isolasi bakteri dilakukan menggunakan metode cawan gores. Satu Ose suspensi bakteri digoreskan pada media uji dan diinkubasikan pada suhu $35^\circ C$.

Tahap Proses Pemurnian dan Pemiakan Jamur

Jamur yang diuji yaitu berupa jamur *Saprolegnia* sp di Laboratorium Mikrobiologi Balai Karantina Ikan Juanda Surabaya. Tahap pemurnian jamur yaitu dengan memotong sedikit bagian sampel agar cawan PDA yang telah ditumbuhi *Saprolegnia* sp yang teridentifikasi dengan menggunakan gunting. Sampel jamur *Saprolegnia* sp yang telah terpotong lalu ditanam pada media PDA dan diinkubasi selama satu hari untuk dibiakkan sebagai media uji dalam proses penghambatan menggunakan bakteri kitinolitik dengan cara inokulasi.

Tahap Uji Antagonis

Biakan fungi *Saprolegnia* sp diinokulasi di tengah medium garam minimum kitin (MGMK) dengan jarak 3,5 cm dari cakram tempat inokulum bakteri, kemudian biakan tersebut diinkubasi selama 72 jam pada suhu $30^\circ C$. Suspensi bakteri kitinolitik yang diberikan berjumlah $2,700 \times 10^9$ CFU/mL sesuai Standar McFarland (Kusdarwati dkk, 2014). Suspensi bakteri tersebut diberikan pada cakram setelah inokulasi jamur dilakukan. Inokulasi bakteri diberikan dalam cakram dengan diameter 0,6 cm dan diletakkan di bagian tepi media, pengulangan dibuat sebanyak lima kali. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk di sekitar koloni. Pengukuran zona hambat jamur dilakukan pada hari ke tujuh (Suryanto dkk, 2011).

Parameter Penelitian Utama

Zona hambat *Saprolegnia* sp terhadap Setiap Perlakuan

Biakan *Saprolegnia* sp yang telah diidentifikasi kemudian diinokulasi di tengah medium garam minimum kitin (MGMK) dengan jarak 3,5 cm dari cakram tempat inokulum bakteri. Biakan bakteri yang digunakan adalah *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis*. Suspensi bakteri yang akan digunakan terlebih dahulu disetarakan dengan larutan McFarland dengan jumlah kepadatan koloni bakteri di dalam suspensi berjumlah $2,700 \times 10^9$ CFU/mL (Kusdarwati dkk, 2014).

Medai uji yang digunakan adalah Medium Garam Minimum Kitin (MGMK) yang telah diletakkan cakram yang berisi supernatan dalam satu cawan Petri berisi dua buah kertas cakram, dan masing-masing jarak antara cakram tersebut diletakkan pada ujung medium cawan Petri yang telah ditumbuhi *Saprolegnia* sp di bagian tengah. Medium uji yang telah ditanam bakteri dan jamur diinkubasi pada suhu 35°C. Aktivitas penghambatan ditentukan berdasarkan zona hambat yang terbentuk disekitar koloni pada hari ke tujuh dengan cara mengukur menggunakan penggaris batas akhir pertumbuhan dari jamur patogen terhadap bakteri kitinolitik pada sumbu X (secara horizontal). Pengukuran sumbu X batas akhir jamur patogen yang dilakukan yaitu dari mulai ujung pertumbuhan akhir jamur patogen terhadap inokulan bakteri yang diberikan di bagian tepi kedua ujung cawan Petri.

Parameter Pendukung

Pengamatan Hifa Abnormal

Pengamatan struktur hifa secara mikroskopis dilakukan dengan cara mengamati ujung miselium pada daerah zona hambat fungsi patogen. Ujung miselium *Saprolegnia* sp yang tumbuh pada permukaan media dipotong dengan bentuk bujur sangkar, kemudian diletakkan pada gelas objek. Abnormalitas pada pertumbuhan miselium jamur patogen seperti pembengkokan ujung miselium, miselium pecah, miselium berbelah, miselium bercabang,

miselium lisis dan miselium tumbuh kerdil yang diamati dibawah mikroskop (Hanif dkk, 2012).

Analisis Data

Hasil dari pengujian antagonis *Saprolegnia* sp terhadap setiap perlakuan diuji dengan Analisis Varian (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95%. Menurut Kusningrum (2010), perlakuan yang diberikan menunjukkan pengaruh yang nyata, maka dilanjutkan dengan uji Tukey *honestly significant difference* (uji Tukey HSD) untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Hasil dan Pembahasan

Uji Antagonis Jamur *Saprolegnia* sp terhadap Setiap Perlakuan

Hasil uji antagonis jamur *Saprolegnia* sp setelah diberi inokulasi ketokonazol 2 %, bakteri *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* yang mengandung enzim kitinase sebagai agen biokontrol untuk menghambat pertumbuhan fungsi patogen dapat dilihat pada Tabel 1.

Pengamatan perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) dan perlakuan D (Ketokonazol 2 %) memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$). Hal tersebut menandakan bahwa perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) memberikan pengaruh yang sama dengan perlakuan D (Ketokonazol 2 %), dan berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan perlakuan A (*Bacillus licheniformis*). Nilai rerata hambatan jamur terhadap perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) dan perlakuan D (Ketokonazol 2 %) adalah 5,48 cm dan 5,50 cm. Hasil uji antagonisme yang terbentuk berupa cekungan maupun penipisan pada sekitar koloni *Saprolegnia* sp dapat dilihat pada Gambar 1.

Pengamatan Hifa Normal dan Abnormal *Saprolegnia* sp

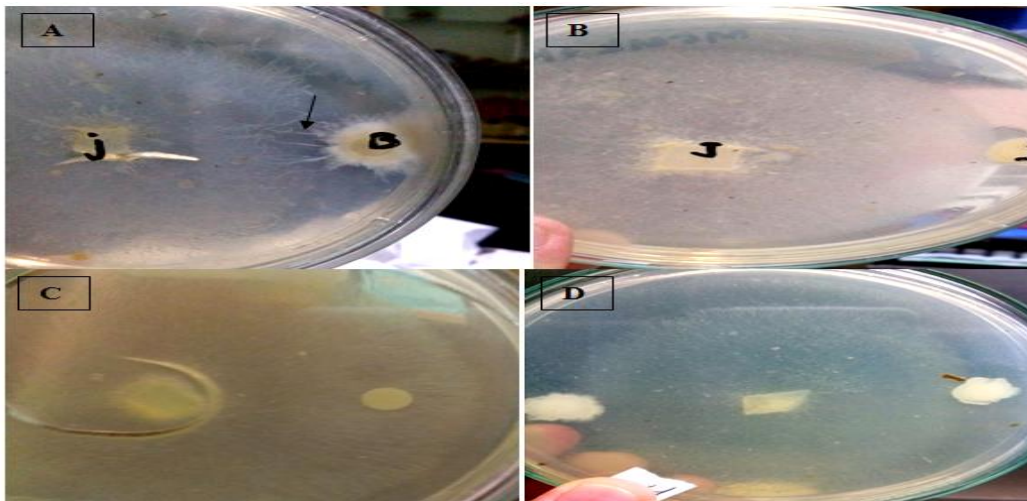
Pengamatan Hifa Normal *Saprolegnia* sp

Pengamatan hifa normal *Saprolegnia* sp dilakukan dengan metode konvensional

Tabel 1. Hasil uji hambatan jamur *Saprolegnia* sp terhadap setiap perlakuan

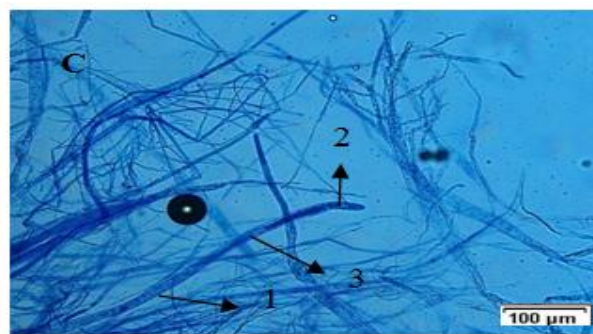
Perlakuan	Zona Hambat Hari Ke 7 (sumbu X)	Ulangan					Rerata
		1	2	3	4	5	
A.		4,50	4,80	4,80	4,60	4,40	4,62 cm ^a
B.		5,30	5,40	5,60	5,50	5,60	5,48 cm ^b
D.		5,50	5,40	5,50	5,40	5,70	5,50 cm ^b
C.		6,30	6,50	6,20	6,40	6,50	6,38 cm ^c

Keterangan: A: *Bacillus licheniformis*, B: *Streptomyces olivaceoviridis*, C: *Saprolegnia* sp (kontrol negatif), D: Ketokonazol 2 %, Notasi yang berbeda pada koloni yang sama menunjukkan perbedaan yang nyata ($p < 0,05$)



Gambar 1. Hasil uji antagonisme *Saprolegnia* sp terhadap setiap perlakuan berupa cekungan maupun penipisan pada sekitar koloni jamur

Keterangan: Uji antagonis A: *Bacillus licheniformis*, B: *Streptomyces olivaceoviridis*, C: *Saprolegnia* sp (kontrol negatif), D: Ketokonazol 2 %, Zona hambat (Tanda Panah)



Gambar 2. Hifa normal *Saprolegnia* sp
Keterangan: 1. Hifa, 2. Sporangium, 3. Sporangiofor

secara mikroskopis menggunakan *Lacthopenol Cotton Blue* sebagai bahan dalam mewarnai koloni jamur kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100X. Hifa normal *Saprolegnia* sp dapat dilihat pada Gambar 2.

Saprolegnia sp memiliki hifa membulat dengan sporulasi tanpa membentuk kista dimulut sporangium dan zoospora langsung menyebar. Hifa *Saprolegnia* sp tidak mempunyai sekat pemisah (septa) tetapi bercabang banyak menjadi miselium (Ratnaningtyas, 2013).

Pengamatan Hifa Abnormal *Saprolegnia* sp terhadap Setiap Perlakuan

Miselium jamur yang tumbuh di media MGMK pada daerah zona hambat batas akhir pertumbuhan fungi terhadap inokulan bakteri diambil dengan cara memotong sedikit bagian agar tersebut kemudian diletakkan di atas objek glass. Potongan miselium jamur *Saprolegnia* sp ditetesi menggunakan *Lacthopenol Cotton Blue*

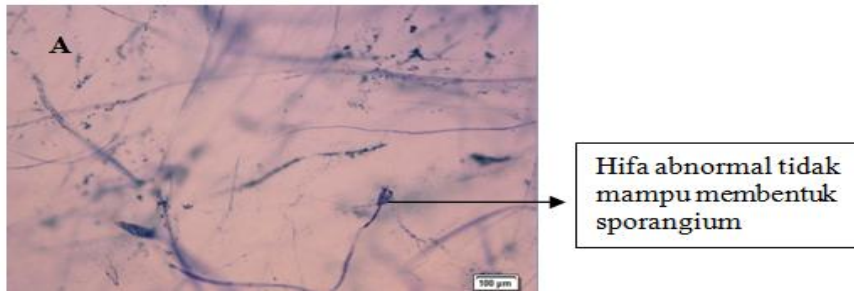
dan ditutup menggunakan *cover glass* kemudian diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100X.

A. Hifa Abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *Bacillus licheniformis*

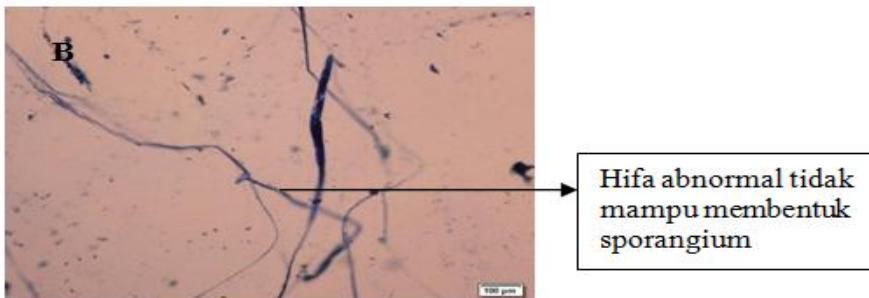
Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *B. licheniformis* yaitu terlihat adanya hambatan pertumbuhan miselium jamur patogen setelah diberi inokulasi bakteri kitinolitik. Struktur pertumbuhan miselium jamur *Saprolegnia* sp yang diujikan terlihat sporangiofor tidak mampu membentuk sporangium sebagai tempat dihasilkannya spora jamur, miselium terlihat pecah, dan dinding sel jamur lisis. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *Bacillus licheniformis* dapat dilihat pada Gambar 3.

B. Hifa Abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *Streptomyces olivaceoviridis*

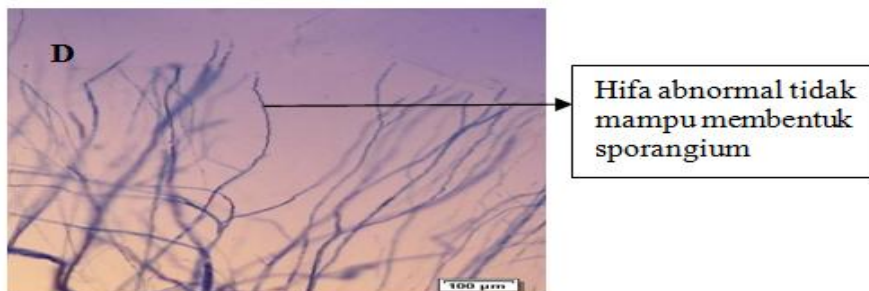
Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *S. Olivaceoviridis* yaitu terlihat adanya hambatan



Gambar 3. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *B. Licheniformis*



Gambar 4. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *S. olivaceoviridis*



Gambar 5. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap Ketokonazol 2 %

pertumbuhan miselium jamur patogen setelah diberi inokulasi bakteri kitinolitik. Struktur pertumbuhan miselium jamur *Saprolegnia* sp yang diujikan terlihat sporangiofor tidak mampu membentuk sporangium sebagai tempat dihasilkannya spora jamur, miselium bercabang dimana miselium masih mampu berusaha membentuk percabangan lain untuk menghasilkan spora dan dinding sel jamur terlihat lisis. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap *Streptomyces olivaceoviridis* dapat dilihat pada Gambar 4.

C. Hifa Abnormal *Saprolegnia* sp terhadap Ketokonazol 2 %

Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap ketokonazol 2 % yaitu terlihat adanya hambatan pertumbuhan miselium jamur patogen setelah diberi inokulasi bakteri kitinolitik. Struktur pertumbuhan miselium jamur *Saprolegnia* sp

yang diujikan terlihat sporangiofor tidak mampu membentuk sporangium sebagai tempat dihasilkannya spora jamur, miselium dan dinding sel jamur terlihat lisis. Hifa abnormal *Saprolegnia* sp terhadap Ketokonazol 2 % dapat dilihat pada Gambar 5.

Bakteri *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* memiliki aktivitas kitinase yang mampu menjadi agen biokontrol fungi. Aktivitas kitinase yang diproduksi bakteri dapat menghidrolisis struktur kitin, senyawa utama penyusun dinding sel tabung spora dan miselia, sehingga jamur tidak mampu tumbuh dengan baik atau terdegradasi (Priyanto dkk, 2001). Hal ini terbukti dengan terhambatnya pertumbuhan miselium jamur patogen *Saprolegnia* sp setelah diberi inokulasi bakteri kitinolitik. Struktur pertumbuhan miselium jamur *Saprolegnia* sp yang diujikan memiliki

karakteristik yang berbeda-beda setiap perlakuan yang diberikan.

Bentuk miselium *Saprolegnia* sp yang diberikan perlakuan *Bacillus licheniformis* terlihat miselium terlihat pecah, miselium *Saprolegnia* sp yang diberikan perlakuan *Streptomyces olivaceoviridis* terlihat miselium bercabang dimana miselium masih mampu berusaha membentuk percabangan lain, miselium *Saprolegnia* sp yang diberikan perlakuan ketokonazol 2 % terlihat lisis. Miselium jamur yang diberikan perlakuan menggunakan *Bacillus licheniformis*, *Streptomyces olivaceoviridis*, dan ketokonazol 2 % umumnya terlihat tidak mampu membentuk pertumbuhan spora sedangkan miselium jamur yang tanpa diberikan perlakuan terlihat sporangiofor mampu membentuk sporangium sebagai tempat dihasilkannya spora jamur.

Pengujian antagonis pada setiap perlakuan terlihat adanya zona hambat pada perlakuan A (*Bacillus licheniformis*) terlihat adanya aktivitas hambatan yang terbentuk berupa cekungan maupun penipisan pada sekitar koloni *Saprolegnia* sp. Perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) dan D (ketokonazol 2 %), tidak terbentuk adanya cekungan namun masih dapat terbentuk adanya hambatan terhadap *Saprolegnia* pada hari ketujuh. Perlakuan C (tanpa perlakuan) tidak memberikan pengaruh yang nyata dalam menghambat *Saprolegnia* sp. Zona hambat pada setiap perlakuan yang diberikan ada yang terus bertambah dan adapula yang semakin berkurang hingga hari ketujuh. Hal ini bisa disebabkan oleh jenis strain bakteri, jumlah senyawa antimikroba, konsentrasi dan kualitas senyawa antimikroba serta adanya mekanisme penghambatan yang berbeda dari jamur patogen (Papuangan, 2009).

Uji antagonis menunjukkan penghambatan paling besar terhadap *Saprolegnia* sp pada hari ketujuh adalah isolat *Bacillus licheniformis* dengan zona hambat 4,62 cm. Aktivitas hambatan bakteri kitinolitik pada penelitian ini berpengaruh nyata ($p < 0,05$) terhadap pertumbuhan *Saprolegnia* sp. Perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) dan perlakuan D (ketokonazol 2 %) memiliki pengaruh yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) artinya Perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) mampu memberikan pengaruh yang sama dengan perlakuan D (Ketokonazol 2 %). Perlakuan B (*Streptomyces olivaceoviridis*) dan perlakuan D (ketokonazol 2 %) masih mampu memiliki aktivitas penghambatan terhadap *Saprolegnia* sp dibandingkan dengan perlakuan C (sebelum perlakuan), sehingga

pemberian perlakuan tersebut masih layak untuk agen biokontrol jamur. Hal ini terbukti setelah *Saprolegnia* sp diinduksi dengan perlakuan tersebut terlihat adanya zona hambat sehingga terjadi abnormalitas pertumbuhan hifa.

Aktivitas antagonis kedua bakteri dan ketokonazol tersebut menyebabkan hifa tidak mampu berkembang dengan baik serta tidak mampu menghasilkan zoospora secara normal. Hal ini disebabkan bakteri *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* termasuk bakteri kitinolitik. Bakteri kitinolitik dapat menghidrolisis senyawa kitin penyusun utama dinding sel jamur patogen yang dapat didegradasi oleh enzim kitinase yang terdapat pada bakteri (Herdyastuti dkk, 2009).

Menurut Muharni dan Widjajanti (2011), aktivitas kitinase dari bakteri kitinolitik sangat potensial digunakan sebagai agen pengendali hayati terhadap jamur patogen maupun serangan hama, karena kedua organisme ini mempunyai komponen kitin pada dinding selnya. Enzim kitinase yang disekresikan oleh isolat bakteri ini kemungkinan menjadi salah satu mekanisme dalam penghambatan terhadap *Saprolegnia* sp. Berdasarkan kemampuannya dalam mendegradasi kitin sebagai penyusun dinding sel *Saprolegnia* sp, sehingga dinding sel jamur tidak mampu tumbuh dengan baik atau mengalami lisis.

Kesimpulan

Bakteri kitinolitik yang digunakan pada penelitian ini, dapat menghambat pertumbuhan jamur *Saprolegnia* sp, penyebab saprolegniasis pada ikan secara in vitro. Zona hambat yang dihasilkan pada *Bacillus licheniformis* terhadap koloni jamur sebesar 4,62 cm lebih baik dibandingkan *Streptomyces olivaceoviridis* sebesar 5,48 cm yang memberikan efektifitas hambatan yang sama dengan ketokonazol. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai nilai kitinase yang dihasilkan oleh *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis*. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai potensi *Bacillus licheniformis* dan *Streptomyces olivaceoviridis* terhadap pertumbuhan *Saprolegnia* sp secara in vivo.

Daftar Pustaka

El-Katatny, M. H., W. Somitsch., K.H. Robra., M. S. El-Katatny and G.M. Gilbitz. 2000. *Production of Chitinase and β 1,3-glucanase by Trichoderma harzianum for Control of the Phytopathogenic Fungus Sclerotium rolfsii. Food Technol Biotechnol* 38 (3) : 173.

- Haliza, W dan M. T. Suhartono. 2012. Karakteristik Kitinase dari Mikroba. Buletin Teknologi Pascapanen Pertanian. Bogor. Institut Pertanian Bogor. 8 (1) : 1-14.
- Hanif, A., D. Suryanto dan I. Nurwahyuni. 2012. Pemanfaatan Bakteri Kitinolitik Dalam Menghambat Pertumbuhan *Curvularia* sp. Penyebab Penyakit Bercak Daun Pada Tanaman Mentimun. Skripsi. Departemen Biologi. Fakultas MIPA. Universitas Sumatera Utara. Padang Bulan. Medan. 1 (1) : 1-7.
- Herdyastuti, N., J.T. Raharjo., Mudasir dan S. Matsjeh. 2009. Kitinase dan Mikroorganisme Kitinolitik: Isolasi, Karakterisasi dan Manfaatnya. Indo J Chem 9 (1) : 37-38, 40.
- Kusdarwati, R., Sudarno dan Rozi. 2014. Petunjuk Praktikum Analisis Penyakit Ikan I. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. hal 22-23.
- Kusriningrum. 2010. Perancangan Percobaan. Airlangga University Press. Surabaya. hal. 10.
- Kusumaningsih, T., A. Masykur dan U. Arief. 2004. Pembuatan Kitosan dari Kitin Cangkang Bekicot (*Achatina fulica*). *Biofarmasi* 2 (2) : 1693-2242.
- Muharni dan H. Widjajanti. 2011. Skrining Bakteri Kitinolitik Antagonis terhadap Pertumbuhan Jamur Akar Putih (*Rigidoporus lignosus*) dari Rizosfir Tanaman Karet. Jurnal Penelitian Sains. Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Sriwijaya. Sumatera Selatan. 14 (1) : 51-56.
- Papuangan, N. 2009. Aktivitas Penghambatan Senyawa Antimikroba *Streptomyces* spp. Terhadap Mikroba Patogen Tular Tanah Secara In Vitro dan In Planta. Tesis. IPB. Bogor. hal : 22.
- Patil, R. S., V. Chormade, dan M. V. Desphande. 2000. Chitinolytic enzymes an Exploration. *Enz Microb Technol.* 26:473-483.
- Priyanto, T.P., M.S. Sudjono, Y. Chaerani, Suryadi dan M. Sudjadi. 2001. Teknik Produksi dan Formulasi Bakteri Kitinolitik Untuk Pengendalian Penyakit Karat Kedelai. Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan. Bogor. Prosiding Seminar Hasil Penelitian Rintisan dan Bioteknologi Tanaman. hal : 229.
- Rahayu, I.H dan S.Purnavita. 2007. Optimasi Pembuatan Kitosan dari Kitin Limbah Cangkang Rajungan (*Portunus pelagicus*) Untuk Absorben Ion Logam Merkuri. *Akademi Kimia Industri St. Paulus Semarang. Reaktor.* 11 (1) : 45-49.
- Ratnaningtyas, A. 2013. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Rimpang Kencur (*Kaemferia galanga* L.) terhadap *Saprolegnia* sp secara in vitro. Program Studi Budidaya Perairan. Fakultas Perikanan dan Kelautan. Universitas Airlangga. Surabaya. hal : 8, 9-10.
- Sembiring, A. 2012. Kemampuan Bakteri Antagonistik dalam Menghadapi Infeksi *Saprolegnia* sp. pada Ikan Nila (*Oreochromis niloticus*). Departemen Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. Medan. hal : 4-5.
- Suryanto, D., N. Irawati and E. Munir. 2011. *Isolation and Characterization of Chitinolytic Bacteria and Their Potential to Inhibit Plant Pathogenic Fungi.* Departemen Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Sumatera Utara. *Microbiology Indonesia* 5(3) : 144-148.

Potensi Bacillus licheniformis.....