

RADIX SUHARJO | YUYUN FITRIANA | PUJI LESTARI

PROSEDUR

ISOLASI

&

KARAKTERISASI BIOKIMIA

SPESES DICKEYA



PROSEDUR
ISOLASI

— & —

KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA

Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta Lingkup Hak Cipta

Pasal 1

Hak Cipta adalah hak eksklusif pencipta yang timbul secara otomatis berdasarkan prinsip deklaratif setelah suatu ciptaan diwujudkan dalam bentuk nyata tanpa mengurangi pembatasan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Ketentuan Pidana Pasal 113

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

PROSEDUR
ISOLASI
— & —
KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA

RADIX SUHARJO
YUYUN FITRIANA
PUJI LESTARI



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA**

Penulis:

Radix Suharjo
Yuyun Fitriana
Puji Lestari

Editor:

Dr. Muhtadi, S.H., M.H., CRA., CRP.

Desain Cover & Layout

Pusaka Media Design

xii + 75 hal : 15 x 23 cm

Cetakan, Oktober 2022

ISBN: 978-623-418-115-9

Penerbit

PUSAKA MEDIA

Anggota IKAPI

No. 008/LPU/2020

Alamat

Jl. Endro Suratmin, Pandawa Raya. No. 100

Korpri Jaya Sukarame Bandar Lampung

082282148711

email : cspusakamedia@yahoo.com

Website : www.pusakamedia.com

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian
atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit

DAFTAR ISI


KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
PENDAHULUAN	1
ISOLASI DAN KARAKTERISASI.....	4
PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA.....	7
Isolasi	7
Karakterisasi biokimia	9
Produksi Acetoin	9
Reduksi Nitrat	12
Produksi Indole	15
Kemampuan Tumbuh di 5% NaCl	18
Reduksi sukrosa	21
Reduksi Pektin	23
Oksidase	27
Katalase	28
Uji Gram	29

Uji Oksidatif/Fermentatif (OF)	31
Uji soft rot pada umbi kentang	33
Lechitinase	35
Methyl Red	36
Arginin dehidrolase (moeller media)	38
Arginin dehidrolase (Thornley media)	40
Reduksi Gelatin	42
Produksi Pigmen pada Media YDC Agar	45
Hidrolisis Tween 80	47
Hidrolisis Casein	49
Phosphatase	52
Uji H ₂ S	54
Produksi Pigmen Fluorescens	58
Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39°C, 40°C dan 41°C.	60
Kemampuan Menggunakan Berbagai Jenis Bahan Organik	62
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	72

PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA SPESIES DICKEYA



PUSAKA MEDIA

 penerbit pusaka

 pusakamedia@gmail.com

 @pusaka_media

ISBN 978-623-418-115-9



9

786234

181159

HALAMAN PENGESAHAN

DOKUMEN LEMBAGA PENGEMBANGAN PEMBELAJARAN DAN PENJAMIN MUTU UMLA	
TANGGAL	14 April 2023
No TERDAFTAR	SB/BA/LP3M/2023
PARAF Mza

Judul Buku : Prosedur Isolasi dan Karakterisasi Biokimia Spesies Dickeya

Penulis pertama:

- a. Nama Lengkap : Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
- b. NIP : 198106212005011003
- c. Jabatan Fungsional: Lektor Kepala
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penulis kedua:

- a. Nama Lengkap : Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P
- b. NIP : 198108152008122001
- c. Jabatan Fungsional: Lektor Kepala
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penulis ketiga:

- a. Nama Lengkap : Puji Lestari, S.P., M.Si.
- b. NIK : 231407870704201
- c. Jabatan Fungsional: Asisten Ahli
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penerbit : Pusaka Media
ISBN : 978-623-418-115-9
Jumlah halaman : 75

Bandar Lampung, 11 April 2023

Mengetahui:
Ketua Jurusan Proteksi Tanaman,



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P
NIP 198108152008122001

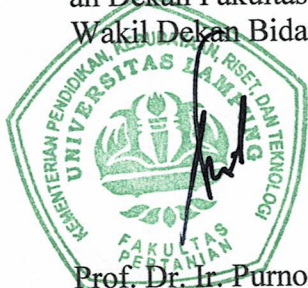
Penulis Pertama,



Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
NIP 198106212005011003

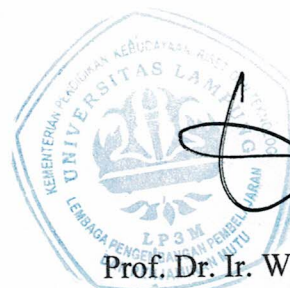
Menyetujui,

an Dekan Fakultas Pertanian
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama



Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.
NIP 196406131987031002

Ketua LP3M



Prof. Dr. Ir. Wan Abbas Zakaria, M.S.
NIP 196108261987021001

PROSEDUR
ISOLASI



KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA

Undang-undang Republik Indonesia Nomor 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta Lingkup Hak Cipta

Pasal 1

Hak Cipta adalah hak eksklusif pencipta yang timbul secara otomatis berdasarkan prinsip deklaratif setelah suatu ciptaan diwujudkan dalam bentuk nyata tanpa mengurangi pembatasan sesuai dengan ketentuan peraturan perundang-undangan.

Ketentuan Pidana Pasal 113

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp 4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

PROSEDUR
ISOLASI
— & —
KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA

**RADIX SUHARJO
YUYUN FITRIANA
PUJI LESTARI**



PUSAKA MEDIA

Perpustakaan Nasional RI:
Katalog Dalam Terbitan (KDT)

**PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA
SPESIES DICKEYA**

Penulis:

Radix Suharjo
Yuyun Fitriana
Puji Lestari

Editor:

Dr. Muhtadi, S.H., M.H., CRA., CRP.

Desain Cover & Layout

Pusaka Media Design

xii + 75 hal : 15 x 23 cm

Cetakan, Oktober 2022

ISBN: 978-623-418-115-9

Penerbit

PUSAKA MEDIA

Anggota IKAPI

No. 008/LPU/2020

Alamat

Jl. Endro Suratmin, Pandawa Raya. No. 100

Korpri Jaya Sukarame Bandarlampung

082282148711

email : cspusakamedia@yahoo.com

Website : www.pusakamedia.com

Dilarang mengutip atau memperbanyak sebagian
atau seluruh isi buku ini tanpa izin tertulis dari penerbit

KATA PENGANTAR

Buku ini disusun bertujuan untuk memberikan pegangan bagi mahasiswa terkait dengan kegiatan isolasi dan karakterisasi biokimia bakteri patogen tumbuhan, khususnya *Dickeya* spp. Buku ini diharapkan dapat melengkapi buku-buku yang telah terbit sebelumnya tentang teknik isolasi dan uji biokimia bakteri patogen tumbuhan. Selain mahasiswa, buku ini juga dapat menjadi pegangan para peneliti dan petugas laboratorium sehingga diharapkan dapat membantu kegiatan penelitian dan identifikasi yang dilakukan.

Buku ini memuat perkembangan tata nama *Dickeya* spp, teknik isolasi dari tanaman yang bergejala serta prosedur pelaksanaan pengujian biokimia untuk menentukan karakter biokimia *Dickeya* spp.. Metode uji biokimia yang dicantumkan dalam buku ini merupakan hasil studi pustaka dan kegiatan pengujian biokimia yang dilakukan oleh penulis selama melakukan penelitian, terutama terkait isolasi dan identifikasi *Dickeya* spp.. Beberapa metode uji biokimia juga telah dipakai untuk melakukan pengujian biokimia *Dickeya* spp. di

Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung, sehingga ada beberapa yang sudah dimodifikasi. Buku ini juga dilengkapi dengan diagram alir pelaksanaan isolasi dan pengujian biokimia, sehingga diharapkan pembaca akan lebih mudah untuk memahaminya.

Penulis menyadari bahwa masih banyak kekurangan kesalahan yang dijumpai di dalam buku ini, sehingga masih diperlukan banyak koreksi, perbaikan dan penyempurnaan di masa yang akan datang.

Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah memberikan motivasi, saran serta dukungannya sehingga buku ini dapat terwujud. Terima kasih juga penulis ucapkan kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan, Riset dan Teknologi (melalui dana riset penelitian dasar kompetitif nasional no kontrak 219/E5/PG/.02.00.PT/2022), Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Lampung sehingga buku ini dapat diterbitkan. Semoga buku ini dapat memberikan manfaat dan sumbangsih bagi semua pihak yang terkait serta kemajuan keilmuan penyakit tumbuhan di Indonesia.

Bandar Lampung, September 2022

Tim Penulis

DAFTAR ISI

KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL.....	xi
PENDAHULUAN	1
ISOLASI DAN KARAKTERISASI.....	4
PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA.....	7
Isolasi	7
Karakterisasi biokimia	9
Produksi Acetoin	9
Reduksi Nitrat	12
Produksi Indole	15
Kemampuan Tumbuh di 5% NaCl	18
Reduksi sukrosa	21
Reduksi Pektin	23
Oksidase	27
Katalase	28
Uji Gram	29

Uji Oksidatif/Fermentatif (OF)	31
Uji soft rot pada umbi kentang	33
Lechitinase	35
Methyl Red	36
Arginin dehidrolase (moeller media)	38
Arginin dehidrolase (Thornley media)	40
Reduksi Gelatin	42
Produksi Pigmen pada Media YDC Agar	45
Hidrolisis Tween 80	47
Hidrolisis Casein	49
Phosphatase	52
Uji H ₂ S	54
Produksi Pigmen Fluorescens	58
Kemampuan Tumbuh pada Suhu 39°C, 40°C dan 41°C.	60
Kemampuan Menggunakan Berbagai Jenis Bahan Organik	62
DAFTAR PUSTAKA	67
LAMPIRAN	72

DAFTAR GAMBAR

1. Langkah isolasi	8
2. Koloni <i>Dickeya</i> spp	8
3. Langkah kerja uji produksi acetoin.....	11
4. Langkah kerja uji reduksi nitrat	14
5. Langkah kerja pembuatan larutan kovacs	16
6. Tahapan pengujian produksi indole	17
7. Tahapan inokulasi bakteri pada uji kemampuan tumbuh di 5% NaCl	19
8. Tahapan inokulasi dan parameter pengamatan bakteri pada uji kemampuan tumbuh di 5% NaCl	20
9. Tahapan pengujian reduksi sukrosa	22
10. Tahapan persiapan media uji reduksi pectin	24
11. Tahapan inokulasi bakteri pada media uji reduksi pectin	25
12. Tahapan inokulasi bakteri dan parameter pengamatan pada uji reduksi pektin	26
13. Tahapan uji oksidase	27
14. Tahapan uji katalase	28
15. Tahapan uji Gram	30

16. Tahap pengujian OF	32
17. Langkah penyiapan umbi kentang untuk uji soft rot.....	33
18. Langkah uji soft rot pada umbi kentang.....	34
19. Tahapan pengujian lechitinase	35
20. Tahapan uji methyl red	37
21. Tahapan pengujian arginine dehidrolase (moeller)	39
22. Tahapan pengujian arginine dehidrolase (Thornley)	41
23. Tahapan pembuatan media reduksi gelatin	43
24. Tahapan inokulasi pada uji reduksi gelatin	44
25. Tahapan uji produksi pigmen pada media YDC agar	46
26. Tahapanan uji hidrolisis Tween 80	48
27. Tahapan pengujian hidrolisis casein	51
28. Tahapan uji phosphatase	55
29. Tahapan pembuatan kertas indikator pada pengujian H ₂ S	56
30. Tahapan pengujian H ₂ S	57
31. Tahapan pengujian produksi pigmen fluoresens	59
32. Tahapan pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai tingkat suhu	61
33. Tahapan pembuatan <i>Ayer's media</i>	64
34. Proses pemiringan <i>ayer's media</i> setelah diautoklaf	65
35. Cara inokulasi bakteri pada <i>Ayer's medium</i>	65

DAFTAR TABEL

1. Karakteristik phenon	5
-------------------------------	---

PENDAHULUAN

Dickeya spp. (= *Erwinia chrysanthemi*) merupakan salah satu bakteri patogen tanaman yang cukup penting dengan kerugian ekonomi yang ditimbulkan cukup besar (Perombelon & Kelman 1980). Bakteri ini dapat ditemukan di daerah tropis maupun subtropis dengan inang yang cukup luas, mulai dari tanaman sayuran, buah, pangan dan tanaman keras (Perombelon & Kelman 1980; Ma et al., 2007; Suharjo, 2013; Suharjo et al., 2014).

Dickeya spp. merupakan nama baru dari *Erwinia chrysanthemi*. Pada awalnya *E. chrysanthemi* dibagi menjadi beberapa pathovar berdasarkan inangnya yaitu pv. *chrysanthemi*, pv. *parthenii*, pv. *zetae.*, pv. *dieffenbachiae* (Dye, 1978), pv. *dianthicola* (Dickey, 1979) dan pv. *paradisiaca* (Dickey & Victoria, 1980). Berdasarkan analisis sekuen 16S rRNA (Hauben et al., 1998) mengusulkan *E. chrysanthemi* dimasukkan ke dalam *Pectobacterium chrysanthemi*, dan *E.*

chrysanthemii pv. *paradisiaca* menjadi *Brenneria paradisiaca*. Pada tahun 2005, berdasarkan hasil uji biokimia, serologi, hibridisasi DNA dan analisis sekuens 16S rRNA Samson et al. (2005) mengusulkan pathovar-pathovar *P. chrysanthemii* dan *Brenneria paradisiaca* dimasukkan ke dalam genus *Dickeya*, menjadi *D. chrysanthemii*, *D. dadantii*, *D. dianthicola*, *D. dieffenbachiae*, *D. paradisiaca* dan *D. zea*. Secara detail, sejarah penamaan *Dickeya* spp. dapat dilihat pada Suharjo et al. (2014).

Pada tahun 2014, van der Wolf et al. (2014) melaporkan spesies baru *Dickeya* yang diisolasi dari tanaman kentang, yang kemudian diberi nama *D. solani*. Pada tahun yang sama, Parkinson et al. (2014) juga melaporkan *Dickeya* yang diisolasi dari saluran irigasi dan diberi nama *D. aquatic*. Baru-baru ini, spesies baru *Dickeya* juga ditemukan dan dilaporkan menginfeksi buah pir yang kemudian diberi nama *D. fangzhongdai* (Tian et al., 2016). Pada tahun 2012, Brady et al. (2012) mengusulkan *D. dadantii* dan *D. dieffenbachiae* dimasukkan ke dalam satu spesies *D. dadantii*, menjadi *D. dadantii* subsp *dadantii* dan subsp *dieffenbachiae*. Namun begitu, sebagian peneliti masih sepakat bahwa *D. dadantii* dan *D. dieffenbachiae* merupakan 2 spesies yang berbeda.

Beberapa kelompok yang diduga sebagai spesies baru Dickeya yang belum ditentukan nama spesiesnya juga telah dilaporkan (Parkinson et al., 2009; Suharjo et al., 2014). Spesies tersebut menyerang berbagai jenis tanaman antara lain nanas (Morero et al., 2013), phalaenopsis (Parkinson et al., 2009; Suharjo et al., 2014), vanda, cattleya, iris, taro, oncidium, cattleya, dracaena, bush lily (Suharjo et al., 2014), kentang (Suharjo et al., 2014), jagung (Morero et al., 2013).

ISOLASI DAN KARAKTERISASI

Kegiatan isolasi dan karakterisasi merupakan langkah awal untuk mengetahui identitas suatu patogen tanaman, termasuk bakteri patogen tanaman. Dengan mengetahui identitas suatu patogen tanaman, maka akan memudahkan peneliti dalam melakukan investigasi terhadap patogen tersebut, termasuk ekologi, biologi termasuk kisaran inangnnya. Informasi ini sangat diperlukan untuk menentukan langkah pengendalian yang tepat.

Salah satu langkah awal untuk menentukan identitas bakteri patogen tanaman adalah dengan mengetahui karakteristik biokimia bakteri patogen tersebut dengan melakukan serangkaian uji biokimia (Schaad et al., 2001). Uji biokimia (Dye, 1968; Dye, 1969) merupakan metode standar untuk identifikasi bakteri patogen tumbuhan termasuk *Dickeya* spp. (Toth et al., 2011). Berdasarkan hasil uji biokimia, Samson et al. (2005) membagi *Dickeya* menjadi

beberapa phenotypic group (phena) (Tabel 1). Dalam buku ini akan disajikan tentang prosedur pelaksanaan isolasi dan karakterisasi biokimia spesies *Dickeya*.

Table 1. Karakteristik phenon

Pengujian	Phena					
	1	2	3	4	5	6
Lechitine	+	+	+	+	+	-
ADH Moeller	d (15)	-	-	+	d (69)	-
Casein	+	d (75)	d (80)	+	d (75)	-
Penggunaan :						
D-arabinose	+	-	+	-	-	+
D-tartrate	-	d (75)	-	-	+	+
Inulin	-	-	-	+	d (88)	-
Lactose	+	d (75)	-	d (20)	-	d (17)
Cis-aconitic acid	+	-	d (80)	d (20)	-	-

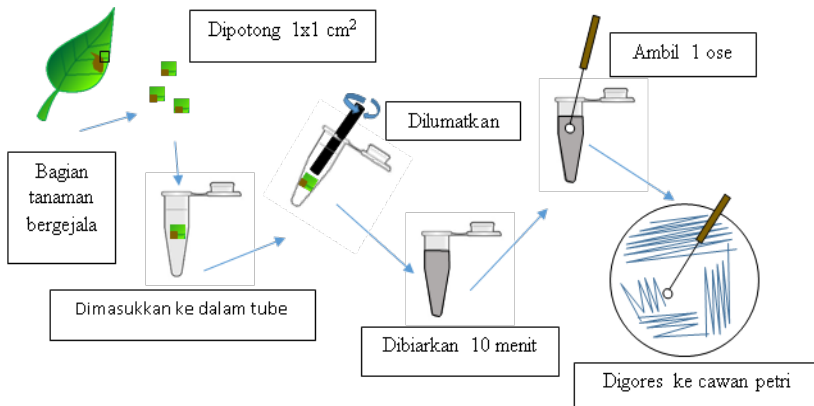
D-melibiose	+	+	-	+	d (44)	d (83)
D-raffinose	+	+	-	+	d (44)	d (83)
5- ketogluconate	-	-	d (20)	-	-	+
Mannitol	+	+	+	+	+	-
M-tartrate	+	D (25)	-	-	+	+
Myo-inositol	+	+	d (80)	+	+	-
Growth at 39 °C	+	+	+	+	-	d (83)

+ : 90 – 100% positif; - : 90 – 100% negatif; d(n) : persentase yang positif , Phenon 1 : *D. dadantii* + *D. zae*, Phenon 2: *D. chrysanthemi* bv. *parthenii*, Phenon 3: *D. dieffenbachiae*, Phenon 4 : *D. chrysanthemi* bv. *chrysanthemi*, Phenon 5: *D. dianthicola*, Phenon 6: *D. paradisiaca* (Samson et al., 2005).

PROSEDUR ISOLASI DAN KARAKTERISASI BIOKIMIA

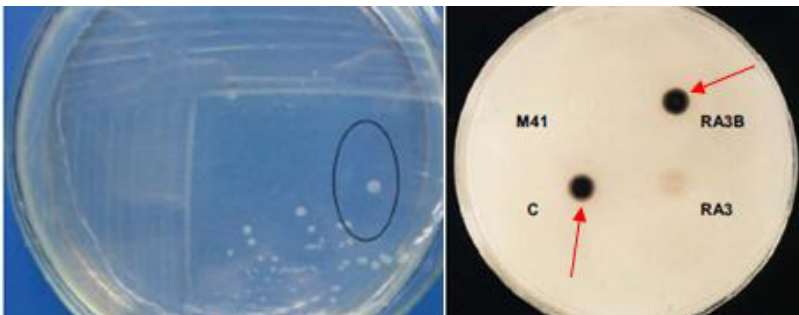
Isolasi

Bagian tanaman yang bergejala pada batas sakit (1/4) dan sehat (3/4) dipotong menggunakan skalpel (ukuran 1 x 1 cm²). Potongan sampel dimasukkan ke dalam microtube 1,5 ml yang telah berisi akuades steril 500 µl. Sampel yang berada di dalam tube dilumatkan dan diamankan kurang lebih 10 menit. Setelah itu, diambil satu ose dan digoreskan ke dalam cawan petri yang berisi media *Yeast Peptone Agar* (YPA) atau *Nutrient Agar* (NA) atau *Yeast Dextrose Calcium carbonate Agar* (YDC). Semua langkah dikerjakan secara aseptis (Gambar 1).



Gambar 1. Langkah isolasi

Pengamatan dilakukan 24-48 jam setelah isolasi. Pindahkan bakteri yang diduga sebagai patogen target ke agar miring yang berisi media *Potato Peptone Glucose Agar* (PPGA) atau YPA atau NA dan simpan untuk pengujian lebih lanjut. Koloni *Dickeya* spp. pada media YPA dan NA akan berwarna putih terang dan pinggir yang agak bergerigi. Sedangkan pada medium YDC akan berwarna coklat kebiruan (Gambar 2).



Gambar 2. Koloni *Dickeya* spp. A. pada media YPA (Aeny et al., 2020) B. pada media YDC (Chu et al., 2010)

Karakterisasi biokimia

Produksi Acetoin

Produksi acetoin merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi acetoin. Acetoin (3-hydroxybutanone atau acetyl methyl carbinol) merupakan molekul empat karbon netral yang digunakan sebagai sumber cadangan energi eksternal oleh sejumlah bakteri yang bersifat fermentatif. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri:

Peptone 5 g

K₂HPO₄ 5 g

Glucose 5 g

Air destilasi 1000 ml

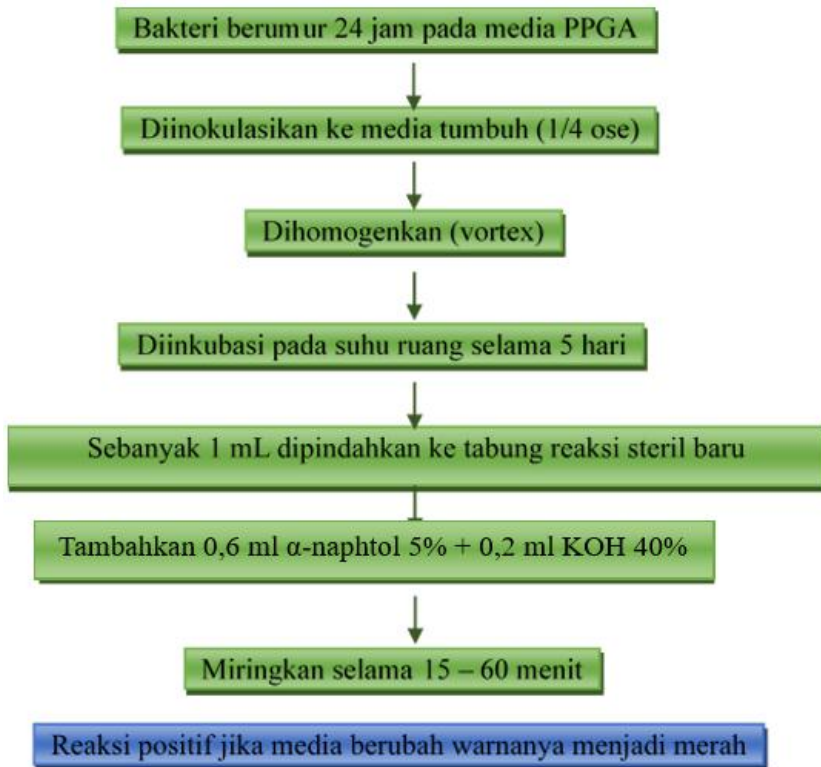
Pembuatan media. Semua bahan dicampur dan diaduk hingga homogen. Setelah semua bahan tercampur sempurna, pastikan pH media berada pada kisaran antara 7 – 7,2. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing masing sebanyak 5 ml. Setelah itu, tabung reaksi yang telah berisi media di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan

1 atm) selama 1 menit. Setelah itu, media diangkat dan tunggu hingga dingin. Setelah dingin, media diinokulasikan dengan bakteri yang akan diuji.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang.

Uji lanjutan. Setelah inkubasi selama 5 hari, pindahkan sebanyak 1 ml suspensi ke dalam tabung reaksi steril yang baru. Setelah itu ditambahkan 0,6 ml α -naphthol 5% (dalam larutan alkohol 70%) dan 0,2 ml KOH 40%. Setelah itu media dimiringkan selama 15 – 60 menit.

Parameter pengamatan. Reaksi positif apabila warna media berubah menjadi merah. Tahapan pengujian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Langkah kerja uji produksi acetoin

Reduksi Nitrat

Reduksi nitrat merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzyme nitrate reductase yang mampu mereduksi nitrat menjadi nitrit. Beberapa kelompok bakteri mampu dibedakan berdasarkan kemampuannya dalam mereduksi nitrat menjadi nitrit. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri:

Beef extract 5 g

Peptone 10 g

KNO₃ 1 g

Air destilasi 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, media dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Masing masing tabung reaksi berisi 5 ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang.

Uji lanjutan. Setelah diinkubasi selama 5 hari, ditambahkan 1 ml suspensi A dan 1 ml suspensi B dan didiamkan selama 30 menit.

Suspensi A. Dibuat dengan cara mencampurkan :

σ naphthylamine (N-1-naphthalene diamine dihydrochloride) 0,5 g

Acetic acid 30 ml

Akuades 100 ml

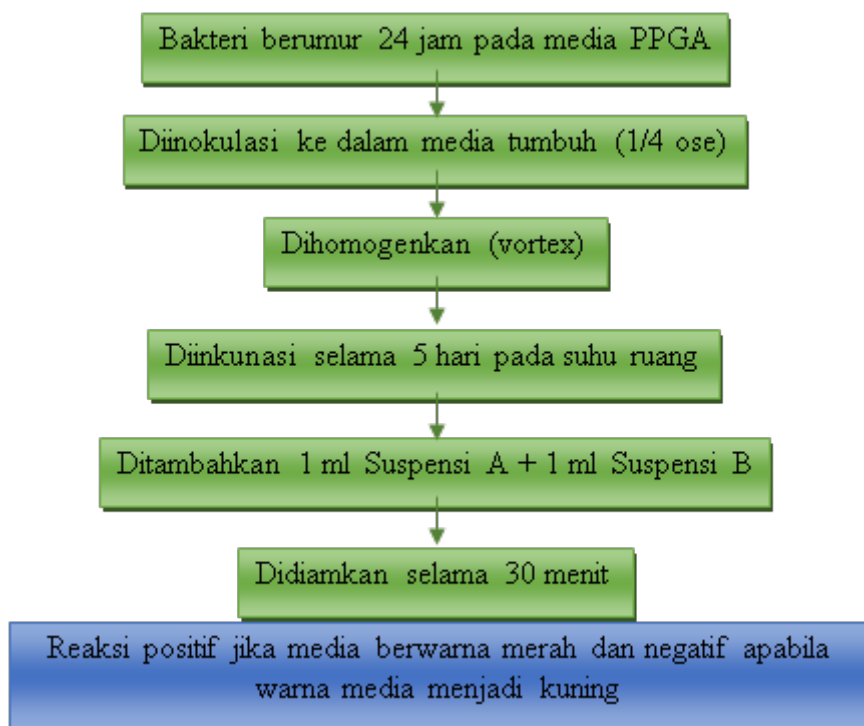
Suspensi B. Dibuat dengan cara mencampurkan:

Sulfanilic acid 0,3 g

Acetic acid 30 ml

Akuades 100 ml

Parameter pengamatan. Reaksi positif apabila warna media menjadi merah dan negatif apabila warna media menjadi kuning. Tahapan pengujian dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Langkah kerja uji reduksi nitrat

Produksi Indole

Produksi indole merupakan uji yang digunakan untuk melihat kemampuan bakteri untuk mendekomposisi asam amino tryptophan menjadi indole. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri:

Peptone 10 g
water 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan pH media 6,8. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 5 ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan *Potato peptone Glucose Agar (PPGA)* berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan dan dihomogenkan menggunakan vortex. Setelah diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang.

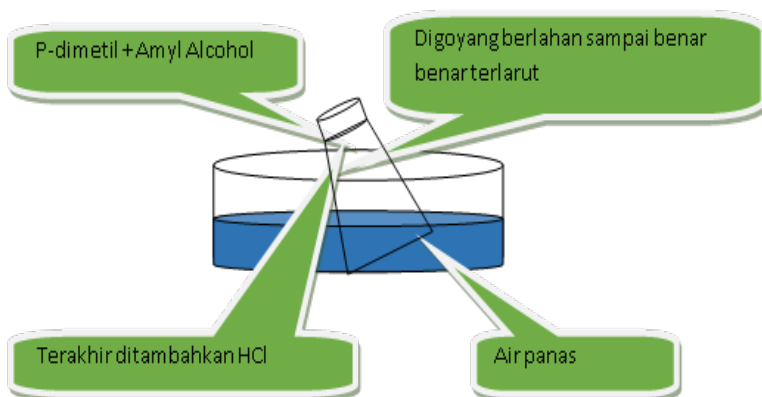
Uji lanjutan. Setelah diinkubasi selama 2 hari, ditambahkan larutan kovacs sebanyak 1 ml. Larutan kovacs dibuat dengan cara mencampurkan:

P-Dimethylaminobenzaldehyde 5 g

N-amil alcohol 75 ml

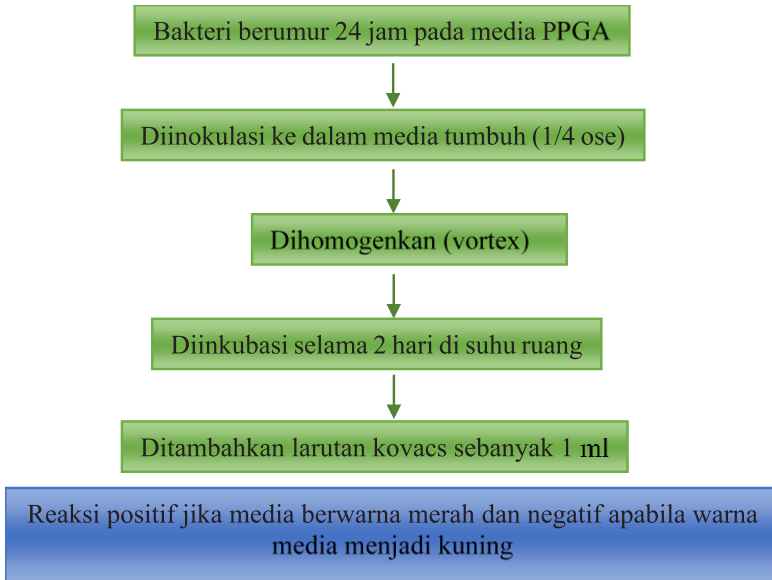
HCl (konsentrasi tinggi) 25 ml

Larutan kovacs dibuat dengan cara mencampurkan P-Dimethylaminobenzaldehyde dan N-amil alcohol ke dalam erlenmeyer 100 ml, kemudian dimasukkan ke dalam wadah yang berisi air panas digoyang-goyang hingga homogen. Setelah homogen ditambahkan 25 ml HCL. Cara pembuatan larutan kovacs dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Langkah kerja pembuatan larutan kovacs

Parameter pengamatan. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna media menjadi merah dan reaksi negatif apabila warna media menjadi kuning. Tahapan pengujian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Tahapan pengujian produksi indole

Kemampuan tumbuhan di 5% NaCl

Uji kemampuan tumbuh pada media yang mengandung 5% NaCl merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk tumbuh pada kondisi lingkungan yang mengandung 5% NaCl. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri:

Peptone 10 g

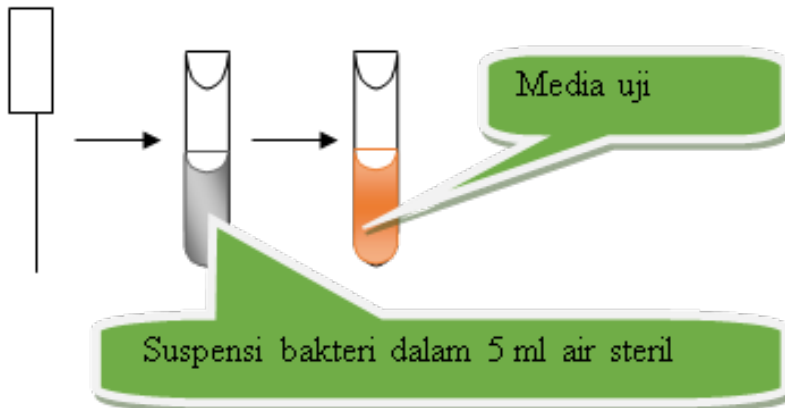
5% NaCl dari volume

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan pH media 6,8. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 5 ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

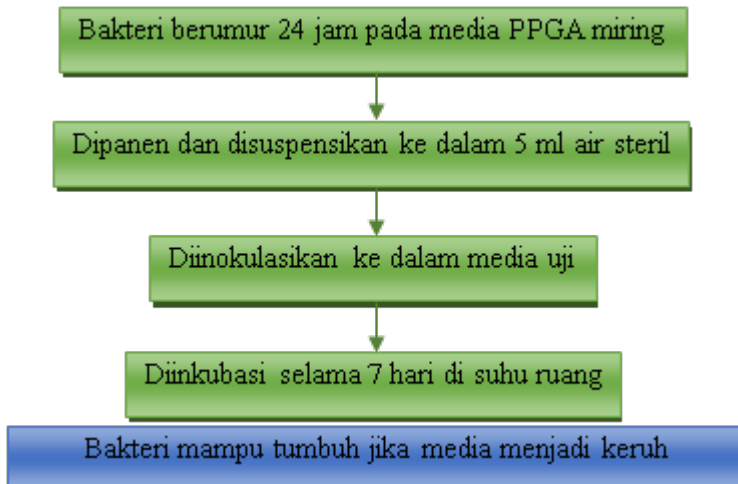
Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan

ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji) dan diinkubasikan pada suhu ruang (Gambar 7 dan 8).



Gambar 7. Tahapan inokulasi bakteri pada uji kemampuan tumbuh di 5% NaCl

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari. Apabila media menjadi keruh artinya bakteri tersebut mampu tumbuh (positif). Tahapan pengujian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Tahapan inokulasi dan parameter pengamatan bakteri pada uji kemampuan tumbuh di 5% NaCl

Reduksi Sukrosa

Reduksi sukrosa bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk mereduksi sukrosa. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri:

Beef extract 5 g

Peptone 10 g

Sucrose 40 g

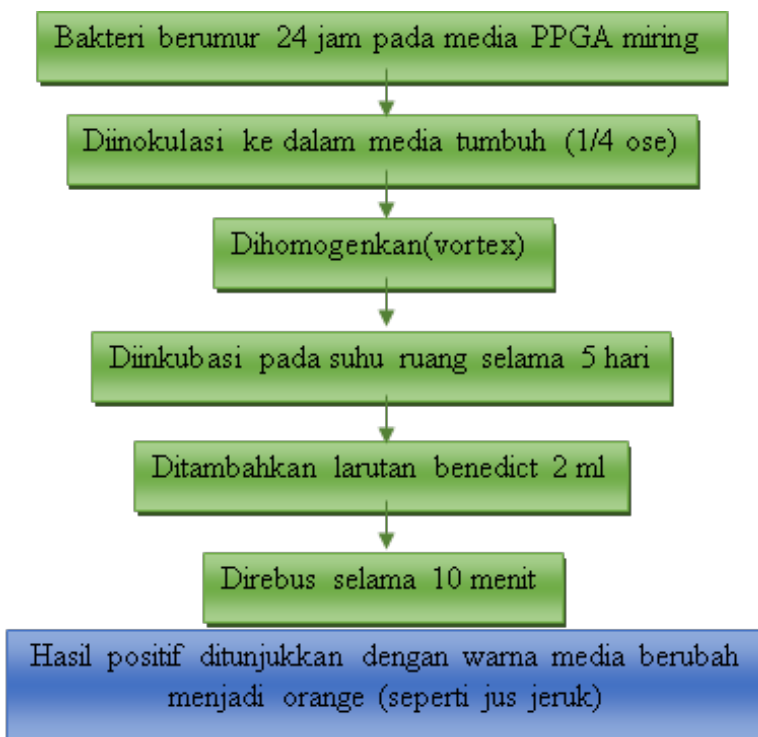
Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan pH media 6,5. Media dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 2 ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan dan dihomogenkan

menggunakan vortex. Setelah diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Setelah inkubasi, ditambahkan larutan Benedict 2 ml dan direbus selama 10 menit, diangkat dan didiamkan.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan satu kali setelah direbus. Hasil positif ditunjukkan dengan warna media berubah menjadi orange (seperti jus jeruk). Tahapan pengujian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Tahapan pengujian reduksi sukrosa

Reduksi Pektin

Reduksi pektin merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi pektin. Terdapat 2 medium yang akan digunakan dalam pengujian ini. Secara detail bahan-bahan yang diperlukan antara lain:

Media 1

Peptone 5 g

Calcium lactate 5 g

Akuades 1000 ml

Media 2

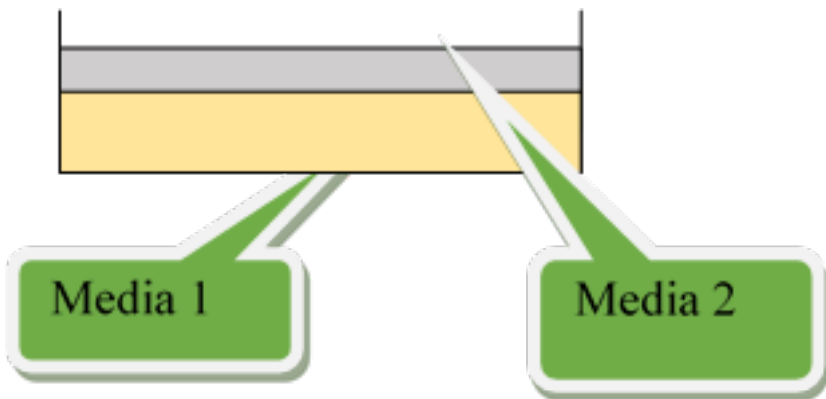
Sodium pectate or PGA 2 g

Ethanol 100% 2 ml

EDTA 0,1 g

Akuades 100 ml

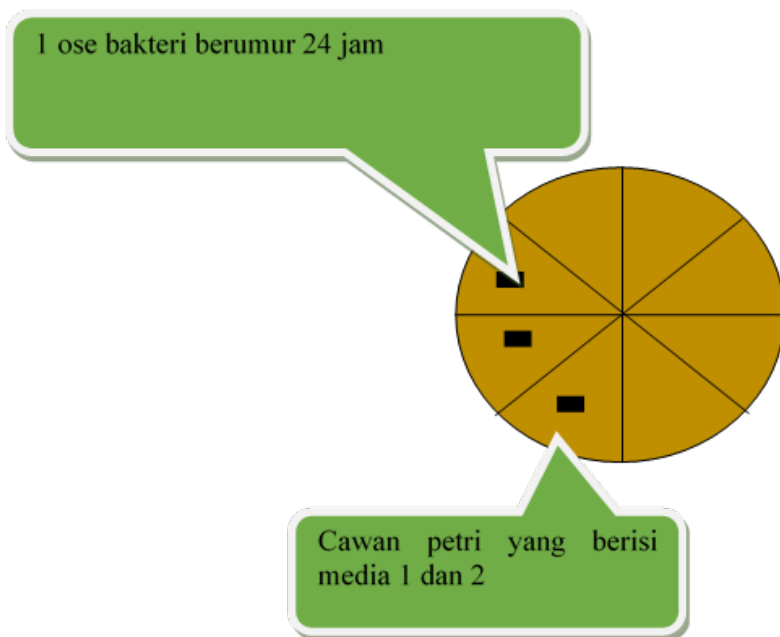
Pembuatan media. Semua bahan pada masing-masing media dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan pH pada media 1 adalah 7,0 – 7,2. Media 2 tidak perlu diukur nilai pH nya. Media 2 dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 5 ml media. Sedangkan media 1 dimasukkan ke dalam Erlenmeyer. Media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit untuk media 1 dan 1 menit untuk media 2. Sebanyak 10 ml media 1 dituang ke dalam cawan petri, kemudian setelah media keras, sebanyak 5 ml media 2 dituang di atasnya (Gambar 10).



Gambar 10. Tahapan persiapan media uji reduksi pektin

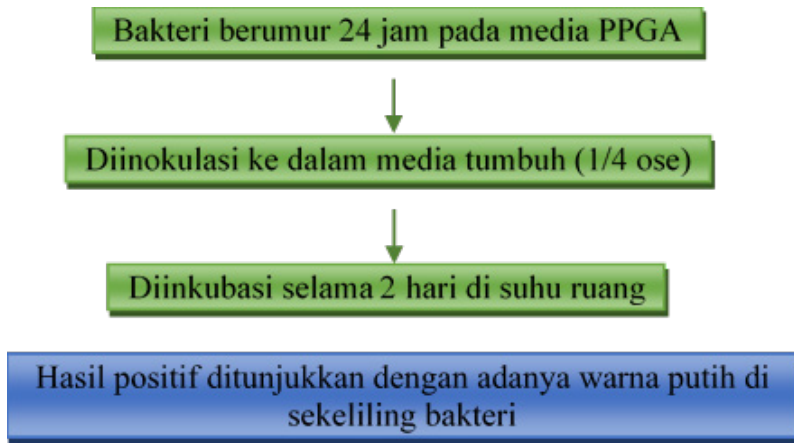
Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan *Potato Peptone Glucose Agar (PPGA)* berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam

media yang sudah disiapkan (Gambar 11, 12). Setelah diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri diinkubasi selama 2 hari pada suhu ruang.



Gambar 11. Tahapan inokulasi bakteri pada media uji reduksi pektin

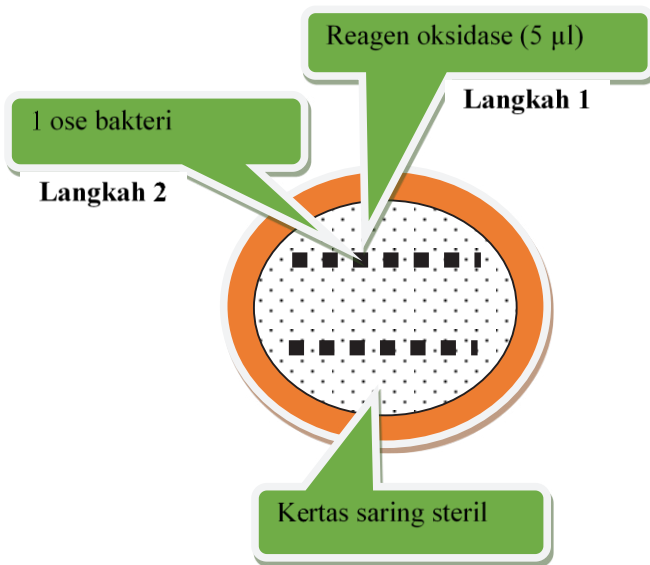
Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan satu kali setelah diinkubasi selama 2 hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna putih di sekeliling bakteri. Tahapan pengujian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Tahapan inokulasi bakteri dan parameter pengamatan pada uji reduksi pektin

Oksidase

Uji oksidase dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang diuji memiliki enzim *cytochrome c oxidase*. Uji oksidase dilakukan dengan meletakkan 1 ose bakteri yang ditumbuhkan pada media PPGA miring (berumur 24 jam) pada kertas saring steril di dalam cawan petri, yang kemudian ditetesi reagen oksidase (1% tetramethyl para phenylenediamine yang dilarutkan dalam air destilasi) dan ditunggu selama 10 menit. Hasil positif ditunjukkan apabila bakteri yang ditetesi reagen warnanya menjadi biru (Gambar 13).

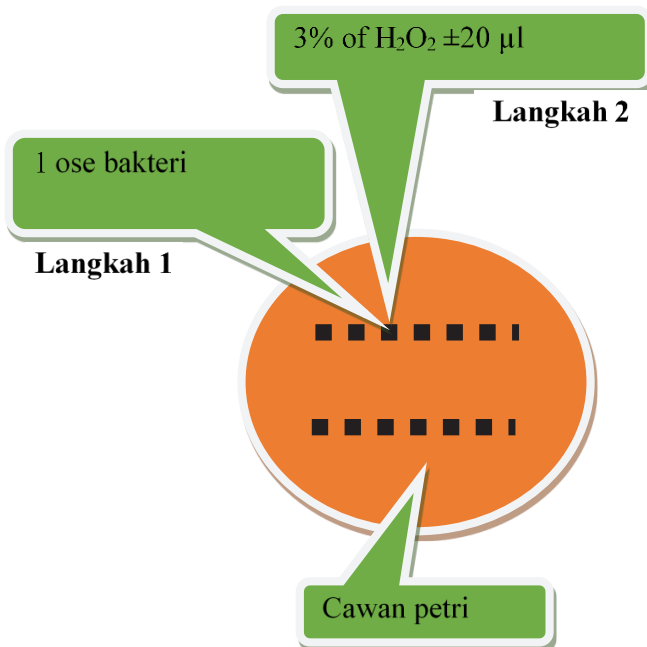


Gambar 13. Tahapan uji oksidase

Katalase

Uji katalase bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim katalase, enzim yang mengkatalisis oksigen dari hidrogen peroksida (H_2O_2).

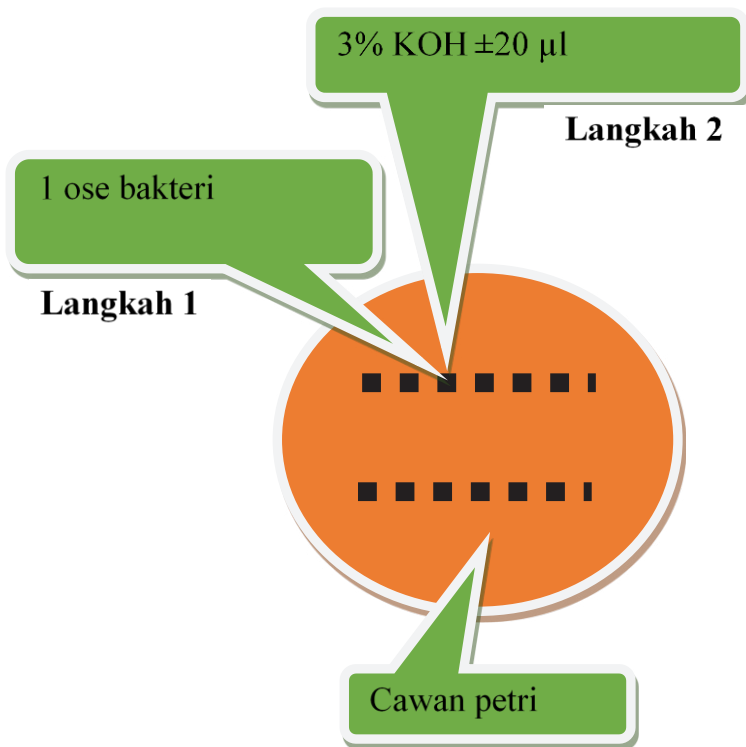
Uji katalase dilakukan dengan meletakkan 1 ose bakteri yang ditumbuhkan pada media PPGA miring (berumur 24 jam) pada cawan petri steril, yang kemudian ditetesi 3% H_2O_2 . Hasil positif ditunjukkan apabila terbentuk gelembung pada bakteri yang ditetesi H_2O_2 tersebut (Gambar 14).



Gambar 14. Tahapan uji katalase

Uji Gram

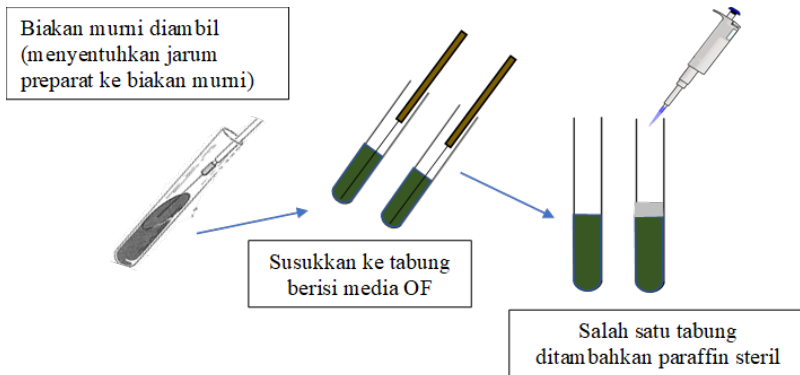
Uji gram dilakukan untuk mengelompokkan bakteri ke dalam kelompok gram positif ataupun gram negatif. Pengujian dilakukan dengan cara meneteskan 10 μ l larutan KOH 3 % (dalam air) di atas cawan petri atau gelas benda, kemudian 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam yang ditumbuhkan di media PPGA miring dicampurkan dan setelah tercampur merata diangkat secara perlahan. Apabila terbentuk lendir yang tidak terputus sepanjang kurang lebih 1 cm, maka bakteri tersebut merupakan bakteri gram negatif, dan apabila tidak terbentuk lendir maka bakteri tersebut merupakan kelompok bakteri gram positif (Gambar 15).



Gambar 15. Tahapan uji Gram

Uji Oksidatif/Fermentatif (OF)

Uji OF dilakukan untuk mengetahui sifat oksidasi atau fermentasi suatu bakteri terhadap glukosa dengan menggunakan dua tabung media yang salah satunya ditutup dengan parafin cair. Tujuan pemberian parafin cair pada media OF adalah sebagai pembanding untuk membuktikan apakah bakteri tersebut mampu melakukan respirasi tanpa menggunakan oksigen bebas (respirasi anaerob). Pengujian dilakukan dengan mengambil biakan murni (dalam agar miring) menggunakan jarum preparat. Tusukkan ke dalam tabung reaksi berisi media OF, masing masing isolat ditusukkan pada dua tabung reaksi. Satu tabung reaksi ditambahkan parafin cair steril 1 ml dan diinkubasikan di suhu ruang. Semua langkah dikerjakan secara aseptis.

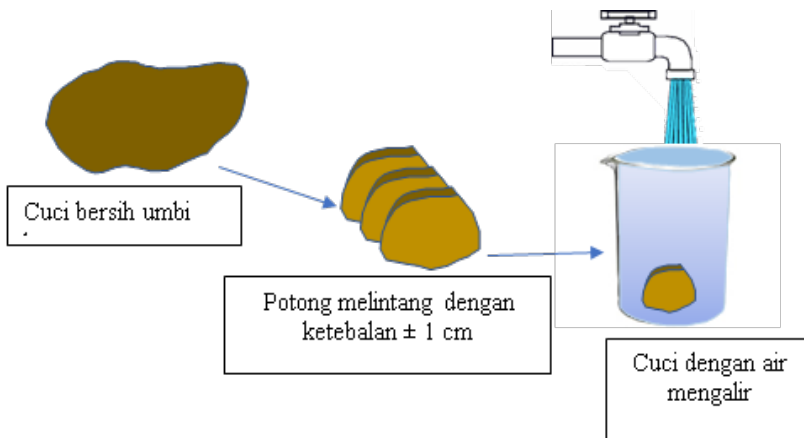


Gambar 16. Tahap pengujian OF

Parameter Pengamatan. Jika kedua tabung berwarna kuning membuktikan bakteri bersifat fermentatif (F), apabila yang tidak diberi paraffin memiliki warna hijau berarti bakteri tersebut bersifat oksidatif (O) dan jika kedua tabung berwarna hijau berarti bakteri tidak bereaksi (NR).

Uji *soft rot* pada umbi kentang

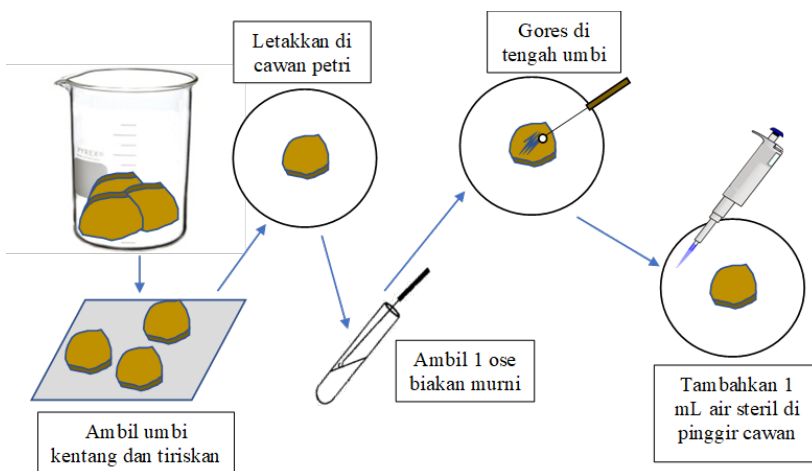
Uji *soft rot* dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut dapat menyebabkan busuk lunak atau tidak. Tahapan pengujian dilakukan dengan cara mencuci umbi kentang sampai bersih kemudian dipotong melintang dengan ketebalan ± 1 cm. Umbi kentang yang telah dipotong kemudian dicuci dengan air mengalir selama 30 – 45 menit.



Gambar 17. Langkah persiapan umbi kentang untuk uji *soft rot*

Tahapan pengujian selanjutnya yaitu potongan umbi kentang diambil kemudian ditiriskan di kertas tissue (± 20 detik) kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Sebanyak 1 ose biakan murni bakteri (dari agar miring)

diambil dan goreskan pada tengah umbi kentang. Untuk menjaga kelembaban, tambahkan 1 ml akuades steril di pinggir cawan petri dan diinkubasikan di suhu ruang.



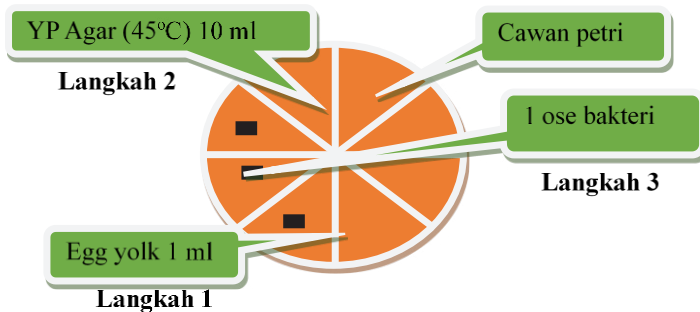
Gambar 18. Langkah uji soft rot pada umbi kentang

Parameter Pengamatan. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah inokulasi. Suatu bakteri dikatakan soft rot positif apabila bakteri tersebut menyebabkan busuk lunak pada umbi kentang yang telah diinokulasikan. *Dickeya* spp. bersifat soft rot positif.

Lecithinase

Lecithinase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri memproduksi enzim lecithinase. Pengujian dilakukan dengan cara menuangkan 1 ml egg yolk (kuning telur) ke dalam cawan petri. Setelah itu 10 ml media YPA (suhu 45°C) dituangkan ke dalam cawan petri dan digoyang perlahan agar egg yolk tercampur merata dengan media.

Inokulasi dan inkubasi. Setelah padat, sebanyak 1 ose biakan bakteri berumur 24 jam digoreskan pada media dan diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang (Gambar 19).



Gambar 19. Tahapan pengujian lechitinase

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya daerah putih di sekitar bakteri.

Methyl Red

Uji Methyl Red merupakan uji yang bertujuan mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi asam selama proses fermentasi glukosa. Bahan yang diperlukan untuk membuat media:

Peptone 5 g

K₂HPO₄ 5 g

Glucose 5 g

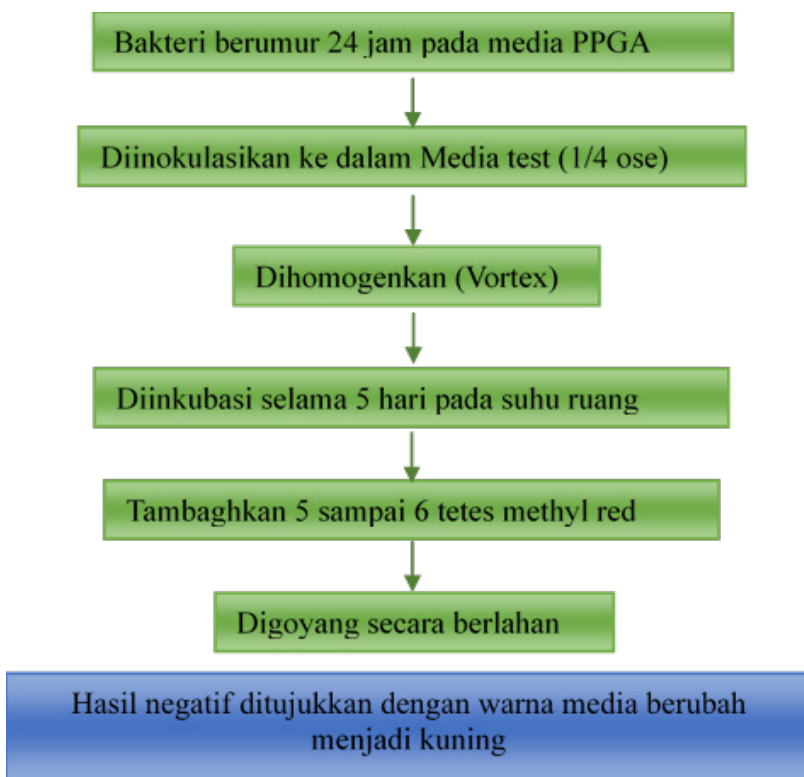
Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 7,0 - 7,2. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 4 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 19). Setelah

diinokulasi, media yang telah diinokulasikan bakteri divortex dan diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Setelah diinkubasi, tabung reaksi ditetesi Methyl red (0,01 g Methyl reddalam 30 ml ethanol 95%) 5 sampai 6 tetes.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan sekali setelah ditetesi dengan methyl red. Hasil negatif ditunjukkan dengan warna media yang berubah menjadi kuning. Tahapan pengujian dapat dilihat pada Gambar 20.



Gambar 20. Tahapan uji methyl red

Arginin dehidrolase (Moeller media)

Uji arginine dihidrolase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim arginin dehidrolase yang akan memecah arginine sehingga dapat digunakan bakteri sebagai sumber karbon dan sebagai energi untuk pertumbuhannya. Bahan yang digunakan untuk membuat media tumbuh:

Difco Decarboxylase Base Moeller 10,5 g

HCl Arginin (Arginin hidroklorit) 10 g

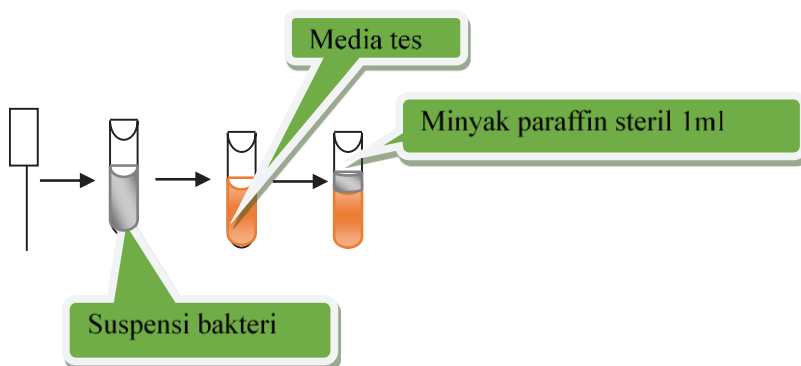
Agar 3 g

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing-masing media dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 6,0. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 4 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji), ditambahkan 1 ml minyak parafin steril dan diinkubasikan pada suhu ruang (Gambar 21). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap perubahan warna media. Hasil positif ditunjukkan berubahnya media menjadi ungu, sedangkan hasil negatif ditunjukkan ketika media berwarna kuning.



Gambar 21. Tahapan pengujian arginine dehidrolase (moeller)

Arginin dehidrolase (Thornley media)

Sama halnya dengan uji arginin dehidrolase media moeller, uji arginin dehidrolase media thornley mempunyai tujuan yang sama. Bahan yang dibutuhkan untuk membuat media tumbuh bakteri antara lain:

Peptone 1 g

NaCl 5 g

HCl Arginin (Arginin hidrochlorit) 10 g

K₂HPO₄ 0,3 g

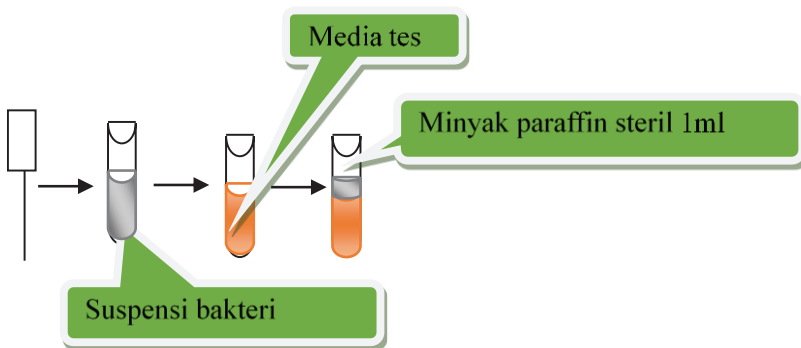
Phenol red 0,01 g

Agar 3 g

Pembuatan media. Semua bahan pada masing-masing media dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 7,2. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 4 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji), ditambahkan 1 ml minyak parafin steril dan diinkubasikan pada suhu ruang (Gambar 21). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap perubahan warna media. Hasil positif ditunjukkan berubahnya media menjadi merah.



Gambar 22. Tahapan pengujian arginine dehidrolase (Thornley)

Reduksi Gelatin

Uji reduksi gelatin dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim gelatinase. Bakteri yang memproduksi enzim gelatinase akan menyebabkan media gelatin menjadi cair. Bahan-bahan yang digunakan untuk membuat media tumbuh antara lain:

Beef extract 5 g

Peptone 10 g

Gelatin (20% of volume)

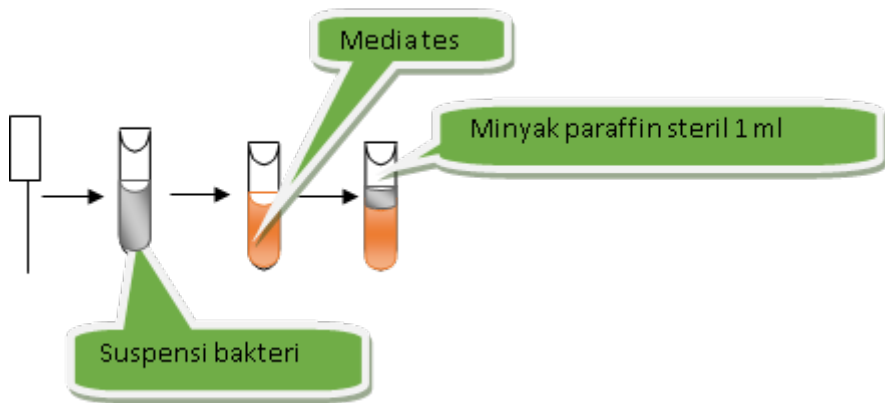
Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing-masing media dicampur, direbus dan diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 6,8. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 5 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit (Gambar 23).



Gambar 23. Tahapan pembuatan media reduksi gelatin

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji), ditambahkan 1 ml minyak parafin steril dan diinkubasikan pada suhu ruang (Gambar 24). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.



Gambar 24. Tahapan inokulasi pada uji reduksi gelatin

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap perubahan media. Hasil positif ditunjukkan dengan media yang menjadi cair.

Produksi Pigmen pada Media YDC Agar

Uji ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan untuk membentuk pigmen ketika ditumbuhkan pada media YDC agar. Bahan bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh:

Yeast 10 g

Glucose 5 g

CaCO₃ 20 g

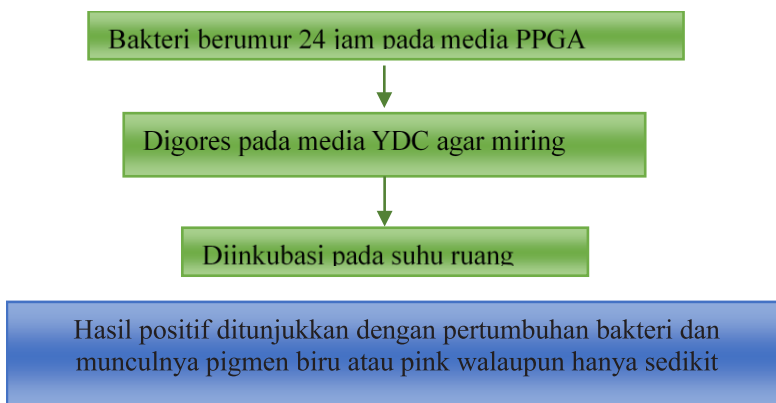
Agar 15 g

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur hingga homogen. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 5 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit. Setelah selesai di autoklaf, sesegera mungkin untuk dimiringkan. Sebelum dimiringkan, media dihomogenkan (divortex terlebih dahulu).

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan (digores) secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 25). Setelah diinokulasi, media diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap pertumbuhan bakteri dan munculnya pigmen biru atau pink pada media. Apabila bakteri tumbuh dan terlihat adanya warna biru ataupun pink pada media, walaupun itu sedikit maka bakteri tersebut mampu memproduksi pigmen pada media YDC (hasil positif).



Gambar 25. Tahapan uji produksi pigmen pada media YDC agar

Hidrolisis Tween 80

Uji hidrolisis Tween 80 merupakan pengujian yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mereduksi Tween. Bahan bahan yang diperlukan untuk membuat media uji antara lain:

Peptone 10 g

NaCl 5 g

CaCl₂.2H₂O 0,1 g

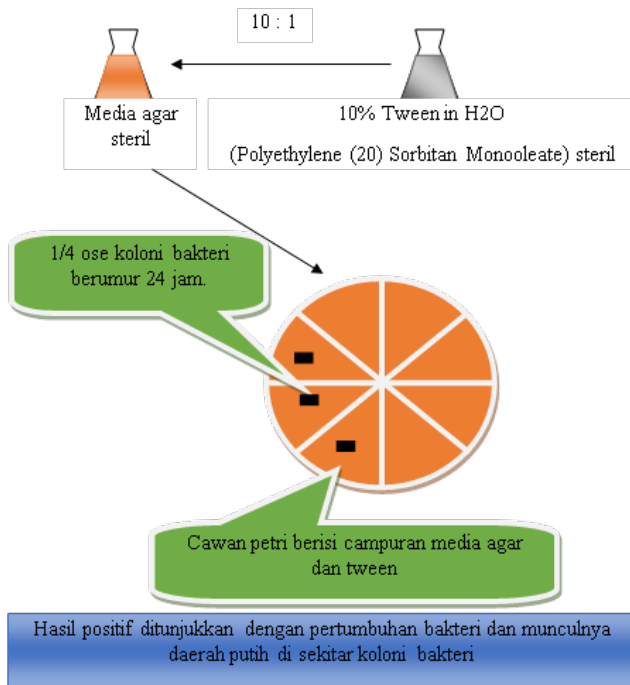
Agar 20 g

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur hingga homogen. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit. Setelah selesai di autoklaf, dimasukkan 10% tween 80 (dalam akuades steril) steril (di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit) dengan perbandingan media dan Tween 10:1 kemudian digoyang agar homogeny. Setelah homogeny, campuran media tersebut dituang ke dalam cawan petri.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan (digores) secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 26). Setelah diinokulasi, media diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap pertumbuhan bakteri dan munculnya daerah warna putih di sekitar koloni bakteri yang tumbuh. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya daerah putih di sekitar koloni bakteri.



Gambar 26. Tahapan uji hidrolisis Tween 80

Hidrolisis Casein

Uji hidrolisis casen bertujuan mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim caseinase. Bakteri yang mampu memproduksi caseinase akan mampu menghidrolisis casen. Dalam pengujian ini digunakan 2 media. Bahan bahan yang diperlukan dalam diuraikan sebagai berikut:

Media 1

Beef extract 1 g

Peptone 2 g

Agar 3 g

Akuades 100 ml

Media 2

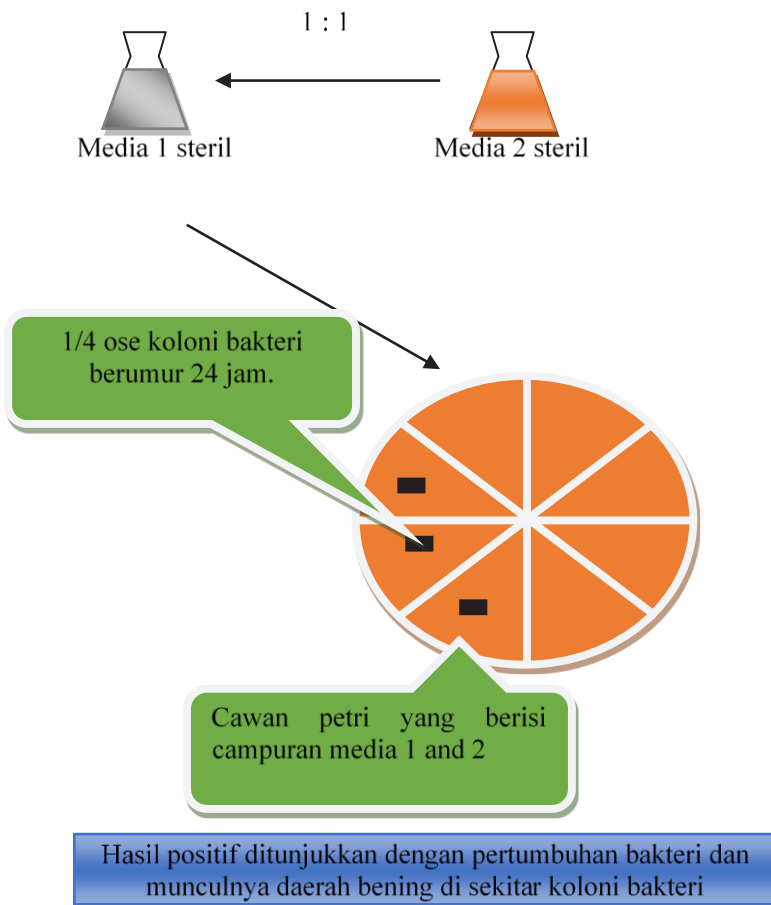
Skim milk 10 g

Akuades 100 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan pH kedua media adalah 6,8 dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit. Setelah di autoklaf, media 1 dan 2 kemudian dicampur dengan perbandingan 1:1 yang kemudian digoyang agar homogen. Setelah homogen kemudian dituang ke dalam cawan petri (Gambar 27).

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan (digores) secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 27). Setelah diinokulasi, media diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari terhadap pertumbuhan bakteri dan munculnya daerah bening disekitar koloni bakteri yang tumbuh. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya daerah bening disekitar koloni bakteri.



Gambar 27. Tahapan pengujian hidrolisis kasein

Phosphatase

Uji phosphatase dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri untuk memproduksi enzim *alkaline phosphatase*. Bahan yang diperlukan dalam membuat media tumbuh antara lain:

Beef extract 5 g

Peptone 10 g

NaCl 2,5 g

Agar 15 g

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur hingga homogen. Media kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan diautoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit. Setelah selesai di autoklaf, ditambahkan 1 ml Phenolphthalein diphosphate 1% dan digoyang hingga homogen. Setelah itu, media dituang ke dalam cawan petri (Gambar 25).

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan (digores) secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 28). Setelah diinokulasi, media diinkubasi selama 5 hari pada suhu ruang. Setelah inkubasi, cawan petri dibalik dan pada bagian tutupnya ditambahkan 500 µl amonia dan ditunggu 2 – 3 menit.

Parameter pengamatan. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna merah di sekitar koloni bakteri.

Uji H₂S

Uji H₂S dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk memproduksi H₂S. Bahan bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh antara lain:

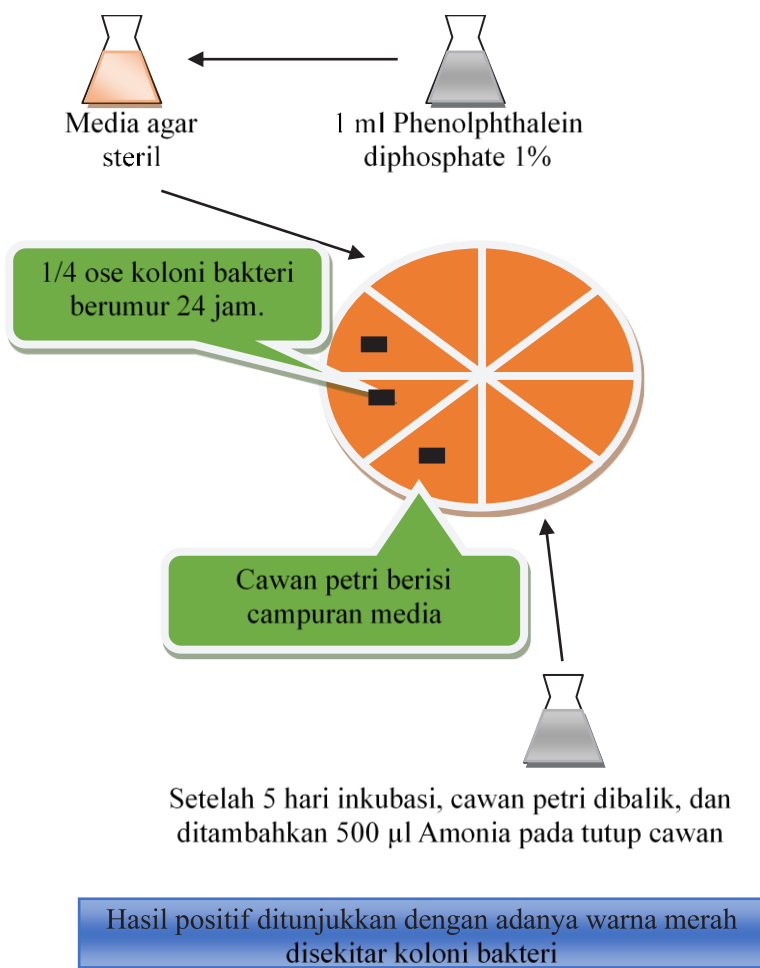
Beef extract 5 g

Akuades 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur, direbus dan diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 6,8. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 5 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

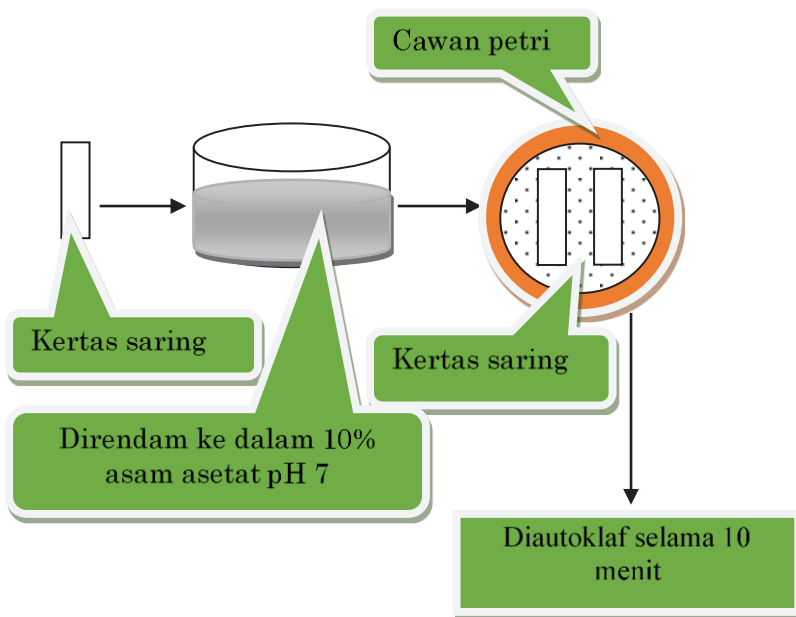
Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam

media tumbuh (uji). Sebelum ditutup, pada bagian ujung (lubang) tabung reaksi ditambahkan kertas indikator (Gambar 28). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.



Gambar 28. Tahapan uji phosphatase

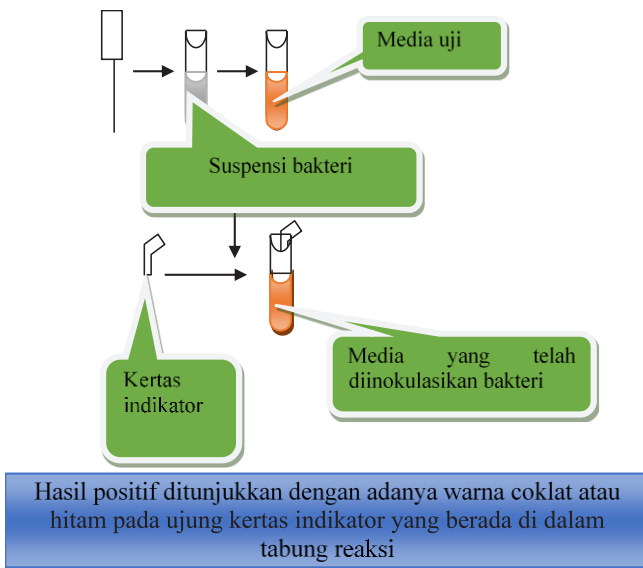
Kertas indikator. Kertas indikator merupakan kertas yang digunakan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut mengeluarkan gas H₂S ataupun tidak. Kertas indikator dibuat dari kertas saring yang dipotong kecil (0,5 x 2 cm). kertas indikator dibuat dengan cara merendam kertas saring yang telah dipotong pada larutan asam asetat 10% pH 7.0 selama 1 menit. Setelah itu, kertas saring diangkat dan dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah dilapisi dengan kertas saring dan diautoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit (Gambar 29).



Gambar 29. Tahapan pembuatan kertas indikator pada pengujian H₂S

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji). Sebelum ditutup, pada bagian ujung (lubang) tabung reaksi ditambahkan kertas indikator (Gambar 29). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari selama 7 hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya warna coklat atau hitam pada ujung kertas indikator yang berada di dalam tabung reaksi (Gambar 30).



Gambar 30. Tahapan pengujian H₂S

Produksi Pigmen Fluorescens

Tahapan ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam memproduksi pigmen fluorescens ketika ditumbuhkan pada media King'S B. Bahan yang diperlukan untuk membuat media pertumbuhan bakteri adalah:

Proteose peptone #3 (Difco) 20 g

K₂HPO₄ 1,5 g

MgSO₄ 7H₂O 1.5 g

Glycerol 10 ml

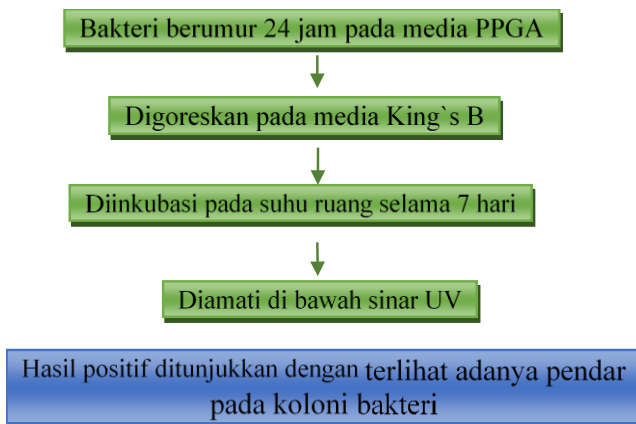
Agar 15 g

Air destilasi 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur, direbus dan diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 7,0 – 7,2. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing masing tabung reaksi berisi 5 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Sebanyak 1/4 ose biakan bakteri yang ditumbuhkan Potato peptone Glucose Agar (PPGA) berumur 24 jam diambil dan diinokulasikan (digores) secara aseptis ke dalam media yang sudah disiapkan (Gambar 31). Setelah diinokulasi, media diinkubasi selama 7 hari pada suhu ruang.

Parameter pengamatan. Setelah inkubasi selama 7 hari, biakan bakteri diamati di bawah sinar UV. Hasil positif ditunjukkan dengan terlihat adanya pendar pada koloni bakteri.



Gambar 31. Tahapan pengujian produksi pigmen fluoresens

Kemampuan Tumbuh pada Suhu

39°C, 40°C dan 41°C

Tahapan ini dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk tumbuh pada suhu 39°C, 40°C dan 41°C. Bahan yang diperlukan untuk membuat media tumbuh bakteri antara lain:

Yeast 5 g

Peptone 10 g

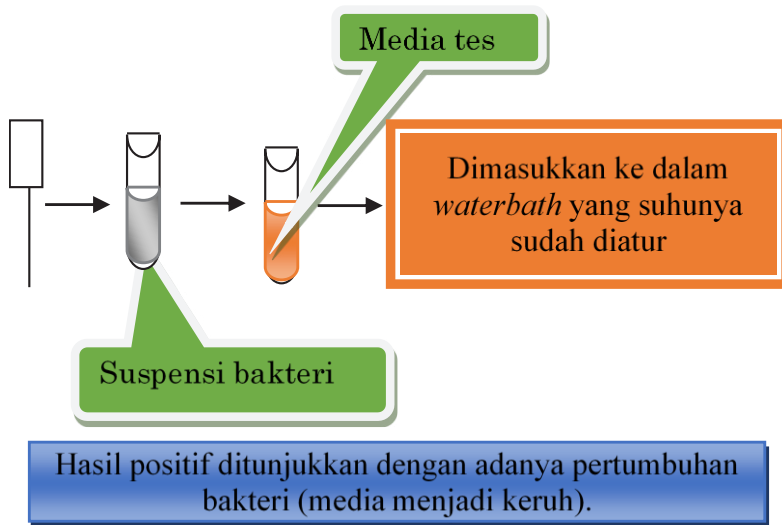
Air destilasi 1000 ml

Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur direbus dan diaduk hingga homogen. Setelah tercampur merata, pastikan nilai pH 7,0 – 7,2. Media kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing tabung reaksi berisi 5 ml media dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 10 menit.

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan

dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam water bath yang suhunya telah kita atur sesuai yang kita inginkan (Gambar 32). Inkubasi dilakukan selama 7 hari.

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan setiap hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri (media menjadi keruh).



Gambar 32. Tahapan pengujian kemampuan tumbuh pada berbagai tingkat suhu

Kemampuan Menggunakan Berbagai Jenis Bahan Organik

Uji kemampuan menggunakan bahan organik bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri tersebut dalam menggunakan bahan organik sebagai sumber karbonnya. Untuk tahapan pengujian ini digunakan *Ayer's media* sebagai media dasar yang nantinya ditambahkan bahan organik yang ingin diuji. Bahan bahan yang digunakan untuk membuat *Ayer's media* antara lain:

$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 1 g

KCl 0,2 g

$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g

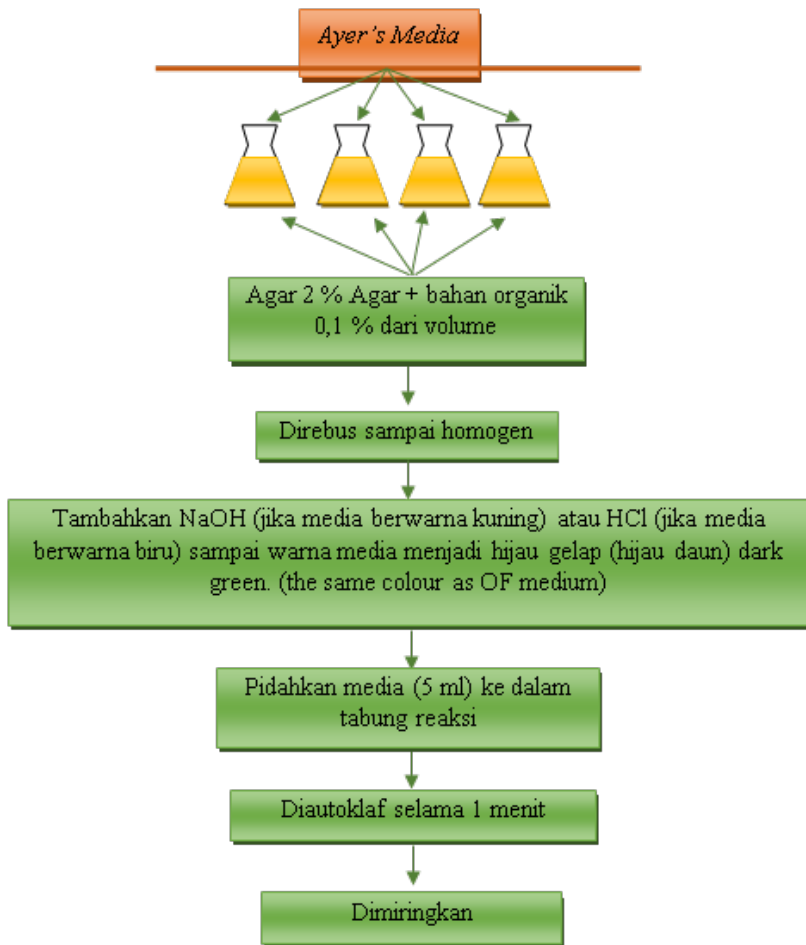
Air destilasi 1000 ml

Bromothymol Blue (BTB) 2%, 18 ml

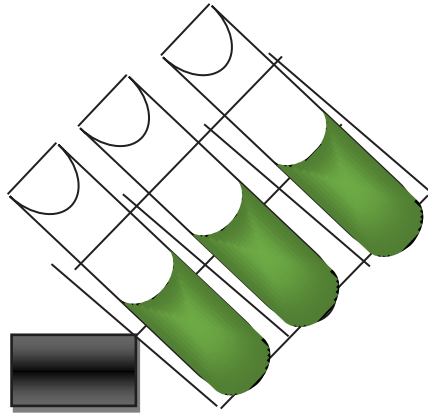
Pembuatan media. Semua bahan pada masing masing media dicampur hingga homogen. Setelah itu, media dipindahkan ke erlenmeyer dengan volume sesuai dengan kebutuhan uji. Sebelumnya di dalam erlenmeyer ditambahkan agar 2% dan 0,1% bahan organik dari volume media *Ayer's media* yang kita tambahkan. Setelah *ayer's*

media ditambahkan, kemudian direbus hingga homogen. Setelah homogen, ditambahkan NaOH (apabila warna media kuning) dan HCL (apabila warna media biru) hingga warna media menjadi hijau gelap (hijau daun). Setelah itu, sebanyak 5 ml media dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan di autoklaf pada suhu 121°C (tekanan 1 atm) selama 1 menit. Segera setelah dikeluarkan dari autoklaf, media kemudian dimiringkan (Gambar 33, 34)

Inokulasi dan inkubasi. Biakan murni bakteri berumur 24 jam pada media PPGA miring (semua bakteri yang tumbuh) diambil (dipanen) menggunakan jarum ose dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 5 ml akuades steril dan dihomogenkan. Jarum preparat steril kemudian dimasukkan ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dimasukkan ke dalam media tumbuh (uji) dan diinkubasikan pada suhu ruang. Cara inokulasi dapat dilihat pada Gambar 33.

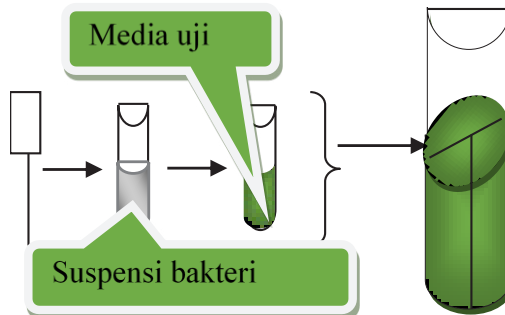


Gambar 33. Tahapan pembuatan Ayer's media



Gambar 34. Proses pemiringan *ayer's media* setelah diautoklaf

Parameter pengamatan. Pengamatan dilakukan pada 2, 4, 7, 14 dan 21 hari setelah inokulasi. Hasil positif ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri dan perubahan warna media menjadi kuning atau biru.



Gambar 35. Cara inokulasi bakteri pada *Ayer's medium*

Contoh bahan organik

1. D-Arabinose
2. L- Tartrate
3. Myo-Inositol
4. Lactose
5. Meso Tartrate
6. Inulin
7. Mannitol
8. Cis-Aconitate
9. Melibiose
10. Raffinose
11. 5-Ketogluconate
12. D-Tartrate
13. Trehalose
14. Glyceric acid
15. Disodium Malonate
16. Malic Acid
17. Glycerol
18. Ethanol
19. α -methyl glucoside
20. L (+) - Rhamnose
21. 4 - Amino - n - Butyric acid
22. Maltose monohydrate
23. D - Ribose
24. L - Proline
25. β -gentiobiose
26. D - Xylose
27. D - Sorbitol
28. Starch
29. γ - Amino
30. L-Proline
31. Sucrose
32. Dulsitol
33. Salicin
34. L- Arabinose
35. D-Glucose
36. D-Mannose
37. Galactose
38. Fructose
39. Dextrin
40. Trehalose
41. Malone acid
42. Triacetin

DAFTAR PUSTAKA

Aeny TN, Suharjo R, Ginting C, Hapsoro D., Niswati A (2020) Characterization and host range assessment of *Dickeya zea* associated with pineapple soft rot disease in East Lampung, Indonesia. *Biodiversitas*. 21:587-595.

Brady CL, Cleenwerck I, Denman S, Venter SN, Rodriguez-Palenzuela P, Coutinho TA, Vos PD (2012) Proposal to reclassify *Brenneria quercina* (Hildebrand and Schroth 1967) Hauben et al 1999 into a new genus, *Lonsdalea* gen. nov., as *Lonsdalea quercina* comb. nov., description of *Lonsdalea quercina* subsp. *quercina* comb. nov., *Lonsdalea quercina* subsp. *iberica* subsp. nov and *Lonsdalea quercina* subsp. *britannica* subsp. nov., emendation of the description of the genus *Brenneria*, reclassification of *Dickeya dieffenbachiae* as *Dickeya dadantii* subsp. *dieffenbachiae* comb. nov., and emendation of the

- description of *Dickeya dadantii*. Int J Syst Evol Microbiol 62:1592–1602
- Chu M-K, Lin L-F, Twu C-S, Lin R-H, Lin Y-C, Hsu S-T, Tzeng K-C, Huang H-C. (2010) Unique features of *Erwinia chrysanthemi* (*Dickeya dadantii*) RA3B genes involved in blue indigoidine production. Microbiol Res 165: 483 – 495
- Dickey RS (1979) *Erwinia chrysanthemi*: A comparative study of phenotypic properties of strains from several hosts and other *Erwinia* species. Phytopathology 69:324–329.
- Dickey RS, Victoria JI (1980) Taxonomy and emended description of strains of *Erwinia* isolated from *Musa paradisiaca* Linnaeus. Int J Syst Bacteriol 30:129–134
- Dye DW (1968) A taxonomic study of the genus *Erwinia* I The “*Amylovora*” group. N Z J Sci 11:590–607
- Dye DW (1969) A taxonomic study of the genus *Erwinia* II The “*Carotovora*” group. N Z J Sci 12:81–97
- Dye DW (1978) Genus V *Erwinia* Winslow, Broadhurst, Buchanan, Krumwiede, Rogers & Smith, 1920. In: Young JM, Dye DW, Bradbury JF, Panagopoulos CG, Robbs CF (eds) A proposed nomenclature and classification for plant pathogenic bacteria. New Zeal J Agric Res 21:153–177

- Hauben L, Moore ERB, Vauterin L, Steenackers M, Mergaert J, Verdonck L, Swings J (1998) Phylogenetic position of phytopathogens within the Enterobacteriaceae. *Syst Appl Microbiol* 21:384–397
- Morero G, Schneider KL, Jenkins DM, Alvarez AM (2013). Phylogeny and classification of *Dickeya* based on multilocus sequence analysis. *Int J Syst Evol Microbiol* 63:3524–3539
- Parkinson N, Stead D, Bew J, Heeney J, Tsrer (Lahkim) L, Elphinstone J (2009) *Dickeya* species relatedness and clade structure determined by comparison of *recA* sequence. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:2388–2393
- Parkinson N, DeVos P, Pirhonen M, Elphinstone J (2014) *Dickeya aquatica* sp. nov., isolated from waterways. *Int J Syst Evol Microbiol* 64: 2264–2266
- Perombelon MCM, Kelman A (1980) Ecology of the soft rot erwinias in Grogan RG, Zentmyer GA, Cowling EB. *Annu Rev Phytopathol* 18:361–387
- Samson R, Legendre JB, Christen R, Fischer-Le Saux M, Achouak W, Gardan L (2005) Transfer of *Pectobacterium chrysanthemi* (Burkholder et al. 1953) Brenner et al. 1973 and *Brenneria paradisiaca* to the genus *Dickeya* gen. nov. as *Dickeya chrysanthemi*

comb. nov. and *Dickeya paradisiaca* comb. nov. and delineation of four novel species, *Dickeya dadantii* sp. nov., *Dickeya dianthicola* sp. nov., *Dickeya dieffenbachiae* sp. nov. and *Dickeya zeae* sp. nov. Int J Syst Evol Microbiol 55:1415–1427

Schaad NW, Jones JB, Chun W (2001) Laboratory guide for identification of plant pathogenic bacteria. APS Press, St. Paul, MN, USA. 373pp.

Suharjo R, Sawada H & Takikawa Y. 2014. Phylogenetic study of Japanese *Dickeya* spp. and development of new rapid identification methods using PCR–RFLP. J Gen Plant Pathol 80:237–254

Suharjo R (2013) Studies on the taxonomy and identification of *Dickeya* spp. and *Pectobacterium* spp. Isolated in Japan. PhD Thesis. Shizuoka University, Shizuoka, Japan.

Tian Y, Zhao Y, Yuan X, Yi J, Fan J, Xu Z, Hu B, De Boer SH, Li X (2016) *Dickeya fangzhongdai* sp. nov., a plant pathogenic bacterium isolated from pear trees (*Pyrus pyrifolia*). Int J Syst Evol Microbiol 66: 2831–2835

Toth IK, van der Wolf JM, Saddler G, Lojkowska E, Helias V, Pirhonen M, Tsor (Lahkim) L, Elphinstone JG (2011) *Dickeya* species: An emerging problem for potato production in Europe. Plant Pathol 60:385–399

van der Wolf JM, Nijhuis EH, Kowalewska MJ, Saddler GS, Parkinson N, Elphinstone JG, Pritchard L, Toth IK, Lojkowska E, Potrykus M, Waleron M, de Vos P, Cleenwerck I, Pirhonen M, Garlant L, He' lias V, Pothier JIF, Pflu" ger V, Duffy B, Tsrer L, Manulis S (2014) *Dickeya solani* sp. nov., a pectinolytic plant-pathogenic bacterium isolated from potato (*Solanum tuberosum*). Int J Syst Evol Microbiol 64:

LAMPIRAN

Bahan dan cara pembuatan media :

Nutrient Agar (NA)

Nutrient broth	8g
Agar	15-20g
Air destilasi	1000 ml
pH 6,8	

Cara pembuatan

Larutkan *Nutrient Broth* dalam 1000 ml air destilasi dan aduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen. Media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm.

Apabila memungkinkan, akan lebih baik kalau sebelum diautoklaf media diatur pH nya pada kisaran 6,8. Kemudian, media direbus (di dalam panci berisi air), sambil sesekali diaduk hingga agar tersuspensi merata (matang).

Potato Peptone Agar (PPGA)

Kentang	200g
Peptone	5g
Glucose	5g
Na ₂ HPO ₄ ·2H ₂ O	3g
NaCl	3g
KH ₂ PO ₄	0,5g
Agar	15-20g
Air destilasi	1000 ml

Cara pembuatan

Kentang yang telah dikupas dan dicuci (200g) dipotong dadu, direbus menggunakan air destilasi sebanyak 800 ml selama 45 menit. Air rebusan kentang tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam gelas beker. Masukkan bahan lainnya termasuk agar ke dalam gelas beaker yang telah berisi rebusan kentang dan diaduk menggunakan magnetic stirrer hingga homogen. Setelah homogen tambahkan air destilasi hingga volume 1000 ml. Media kemudian di autoklaf selama 10 – 15 menit pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm.

Yeast Peptone Agar (YPA)

Yeast extract	5g
Peptone	10g
Agar	15-20g
Air destilasi	1000 ml

pH 6,8

Cara pembuatan

Masukkan *Yeast extract*, *peptone* dan agar ke dalam gelas beker, tambahkan 800 ml air dan aduk menggunakan *magnetic stirrer* hingga homogen dan tambahkan air hingga volume 1000 ml. Media kemudian di autoklaf pada suhu 121°C pada tekanan 1 atm.

HALAMAN PENGESAHAN

DOKUMEN LEMBAGA PENGEMBANGAN PENBELAJARAN DAN PENJAMIN MUTU UMLA	
TANGGAL	14 April 2023
No TERDAFTAR	SB/BA/LP3M/2023
PARAF Mza

Judul Buku : Prosedur Isolasi dan Karakterisasi Biokimia Spesies Dickeya

Penulis pertama:

- a. Nama Lengkap : Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
- b. NIP : 198106212005011003
- c. Jabatan Fungsional: Lektor Kepala
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penulis kedua:

- a. Nama Lengkap : Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P
- b. NIP : 198108152008122001
- c. Jabatan Fungsional: Lektor Kepala
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penulis ketiga:

- a. Nama Lengkap : Puji Lestari, S.P., M.Si.
- b. NIK : 231407870704201
- c. Jabatan Fungsional: Asisten Ahli
- d. Program Studi : Proteksi Tanaman

Penerbit : Pusaka Media
ISBN : 978-623-418-115-9
Jumlah halaman : 75

Bandar Lampung, 11 April 2023

Mengetahui:
Ketua Jurusan Proteksi Tanaman,



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P
NIP 198108152008122001

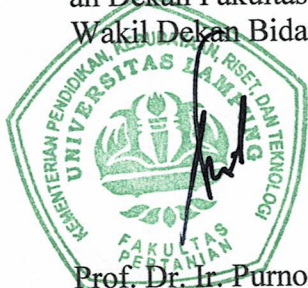
Penulis Pertama,



Dr. Radix Suharjo, S.P., M.Agr.
NIP 198106212005011003

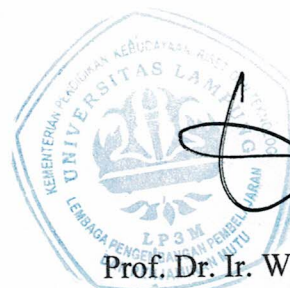
Menyetujui,

an Dekan Fakultas Pertanian
Wakil Dekan Bidang Akademik dan Kerjasama



Prof. Dr. Ir. Purnomo, M.S.
NIP 196406131987031002

Ketua LP3M



Prof. Dr. Ir. Wan Abbas Zakaria, M.S.
NIP 196108261987021001

Bandar Lampung, 6 April 2023

Mengetahui,
Dekan Fakultas Pertanian Unila



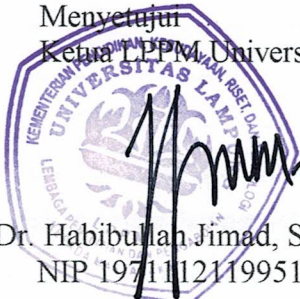
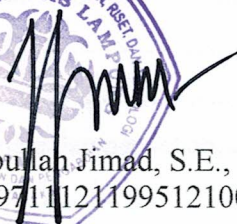
Prof. Dr. Ir. Irwan Sukri Banuwa, M.Si.
NIP 196110201986031002

Ketua Peneliti



Dr. Yuyun Fitriana, S.P., M.P.
NIP 198108152008122001

Menyetujui
Ketua LPPM Universitas Lampung



Dr. Habibullah Jimad, S.E., M.Si.
NIP 197111211995121001