



Jumlah Bakteri *Pseudomonad fluoresen* Isolat Cas dalam Berbagai Formula Media Tumbuh

Devi Aprillia Sary¹, Linda Advinda^{*1}

^{1,2}Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negri Padang
Jl. Prof.Dr. Hamka, Padang 60111 Indonesia
e-mail korespondensi: linda_advinda@yahoo.com

ABSTRACT

Fluorescent pseudomonad is a biological agent that can be used as a controlling plant disease, increasing plant growth and phosphate availability for plants, as well as producing compounds that are signals for plants to produce secondary metabolites that are antimicrobial. Pseudomonad fluorescent can be grown in various growing media. The purpose of the study was to find out the number of pseudomonad fluorescent bacteria in Cas isolates grown in various formulas. This research is an experimental study. The design used complete random design (RAL) with 5 treatments and 3 replays. The treatment is formula M1 (molasses 10 g/L+ ZA 5 g/L), M2 (molasses 10 g/L+ ZA 10 g/L), M3 (molasses 5 g/L+ ZA 5 g/L), M4 (molasses 5 g/L+ ZA 10 g/L), and M5 (NB 8 g/L). The data obtained was analyzed with Anova and DNMRT advanced tests at a real rate of 5%. The results showed that pseudomonad fluorescent isolate Cas grown in formula M3 (molasses 5g/L + ZA 5 g/L) produced the highest number of bacteria which is 118.3×10^8 while the lowest number of bacteria in formula M5 (NB 8g/L) is 9.76×10^8 cfu/mL.

Keywords : *Fluorescent pseudomonad, Formula, The Number of Bacteria, Molasses, ZA*

ABSTRAK

Pseudomonad fluoresen merupakan agen hayati yang dapat digunakan sebagai pengendali penyakit tanaman, meningkatkan pertumbuhan tanaman dan ketersediaan fosfat bagi tanaman, serta menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba. Pseudomonad fluoresen dapat ditumbuhkan dalam berbagai media tumbuh. Tujuan penelitian untuk mengetahui jumlah bakteri Pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen. Rancangan yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah formula M1(molase 10 g/L+ ZA 5 g/L), M2 (molase 10 g/L+ ZA 10 g/L), M3 (molase 5 g/L+ ZA 5 g/L), M4 (molase 5 g/L+ ZA 10 g/L), dan M5 (NB 8 g/L). Data yang diperoleh dianalisis dengan Anova dan uji lanjut DNMRT pada taraf nyata 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M3 (molase 5g/L + ZA 5 g/L) menghasilkan jumlah bakteri tertinggi yaitu $118,3 \times 10^8$, sedangkan jumlah bakteri terendah pada formula M5 (NB 8g/L) yaitu $9,76 \times 10^8$ cfu/mL.

Kata Kunci : *Pseudomonad Fluoresen, Formula, Jumlah Bakteri, Molase, Za*



This work is licensed under a [Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/)

PENDAHULUAN

Pseudomonad fluoresen merupakan agen hayati yang dapat digunakan sebagai pengendali penyakit tanaman. Advinda *et al.*, (2013) menyatakan, disamping dapat mengendalikan penyakit tanaman, *Pseudomonad fluoresen* dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman, dan menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin).

Pseudomonad fluoresen mampu menghasilkan enzim kitinase, siderofor dan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan patogen (Jatnika *et al.*, 2013). Produksi dari senyawa antimikroba dapat dipengaruhi oleh berbagai faktor, diantaranya media tumbuh. Pertumbuhan *Pseudomonad fluoresen* sebagai agen hayati dipengaruhi oleh komposisi nutrisi yang terkandung dalam media tumbuh (Advinda *et al.*, 2018). Di dalam media tumbuh terdapat sumber karbon yang berbeda-beda, dan akan mempengaruhi pertumbuhan serta aktivitas antagonis suatu agen hayati (Addy, 2008).

Penelitian yang berkembang saat ini tentang perbanyakan *Pseudomonad fluoresen* secara massal, masih menggunakan media padat dalam cawan petri. Bahan dasar media ini dibuat oleh pabrik-pabrik sedemikian rupa sehingga harganya cukup mahal. *Pseudomonad fluoresen* yang masih berada dalam cawan petri tidak mempunyai masa simpan yang panjang. Disamping itu, untuk aplikasi *Pseudomonad fluoresen* dalam jumlah banyak mengalami kesulitan karena harus menunggu perbanyakan dari laboratorium terlebih dahulu. Berdasarkan hal tersebut *Pseudomonad fluoresen* harus diproduksi dalam bahan pembawa tertentu, agar mudah diaplikasi, disimpan, dikomersilkan dan digunakan di lapangan (Advinda *et al.*, 2020).

Molase adalah salah satu bahan pembawa yang dapat digunakan untuk menumbuhkan pseudomonad fluoresen. Menurut Advinda *et al.*, (2020) jumlah bakteri terbanyak ditemukan pada medium molase setelah 2 minggu inkubasi. Disamping molase, perbanyakan *Pseudomonad fluoresen* juga dapat menggunakan air kelapa, alginat dan tepung tapioka. Molase sering dijadikan bahan alternatif sebagai sumber karbon dalam media fermentasi karena molase mengandung nutrisi yang cukup tinggi untuk kebutuhan bakteri. Pramana (2006) menyatakan molase merupakan hasil sampingan dari pembuatan gula tebu, dan masih mengandung gula 48-56% dengan kandungan sukrosa 30-40% serta glukosa 4-9% .

Pupuk ZA (Amonium sulfat) dapat ditambahkan ke dalam media tumbuh bakteri untuk memenuhi kebutuhan nitrogen. Menurut Sumantha *et al.*, (2006), nitrogen merupakan faktor penting yang mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme dan sangat diperlukan dalam pertumbuhan sel. Nitrogen adalah unsur hara utama untuk pertumbuhan yang berperan untuk menyusun protein.

Pseudomonad fluoresen isolat Cas merupakan salah satu agen hayati yang memiliki kemampuan sebagai penghasil senyawa antimikroba, dan mempunyai sifat antagonis terhadap patogen (Advinda *et al.*, 2018). Penelitian ini melaporkan tentang jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula media tumbuh.

METODE

Alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah *petridish*, *beaker glass*, tabung reaksi, rak tabung reaksi, batang pengaduk, spatula, pinset, gelas ukur, kompor listrik, lampu spritus, *vortex*, setrifus, timbangan digital, *waterbath*, mikropipet, tip, jarum ose, *erlenmeyer*, oven, *shaker*, *autoclave*, kertas label, spidol, plastik wrap, gelas ukur, aluminium foil, kertas cakram, kamera digital, alat tulis, dan botol balsem 100 mL. Bahan yang diperlukan adalah *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas (koleksi Advinda), medium NA, medium NB, molase, sukrosa, ZA, dan akuades steril.

Jenis penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Isolat yang digunakan adalah *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas. Perlakuan terdiri dari formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L), M2 (molase 10 g/L + ZA 10 g/L), M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L), M4 (molase 5 g/L + ZA 10 g/L), dan M5 (NB 8 g/L). Pengamatan dilakukan terhadap jumlah bakteri yang tumbuh dalam setiap formula. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNP.

Peremajaan dan Perbanyakan *Pseudomonad Fluoresen*

Pseudomonad fluoresen isolat Cas diremajakan dalam cawan petri pada medium NA dengan metode gores, dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Selanjutnya, perbanyakan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium NB, dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

Perbanyakan Inokulum dalam Formula

Untuk membuat kepadatan populasi bakteri 3×10^8 cfu/mL (skala 1 McFarland's) dilakukan dengan cara mengambil suspensi *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas sebanyak 1 mL, dimasukkan ke dalam 9 mL akuades steril, kemudian dibandingkan dengan skala 1 McFarland's yang sudah ada. Mengambil masing-masing 1 mL suspensi, dan memasukkan ke dalam setiap formula yang telah dipersiapkan. Kemudian dishaker selama 2 x 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

Jumlah Bakteri

Suspensi *Pseudomonad fluoresen* yang ada dalam setiap formula, diambil sebanyak 1 mL (skala 1 McFarland's), kemudian memasukkannya ke dalam petri steril. Selanjutnya dituangkan medium NA ke dalam petri tersebut, dan dihomogenkan dengan cara memutar petri seperti angka delapan. Inkubasi dilakukan selama 2 x 24 jam.

Jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas dihitung dengan menghitung bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi selama 2 x 24 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung setelah masa inkubasi dengan menggunakan rumus Klement *et al.*, (1990) sebagai berikut:

$$JB = A \times B$$

JB = jumlah bakteri per Ml

A = jumlah koloni bakteri

B = faktor pengenceran

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan data rata rata jumlah bakteri. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa pemberian konsentrasi molase dengan ZA yang berbeda tidak berpengaruh terhadap jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolate Cas (Tabel 1.).

Tabel 1. Rata-rata jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula.

No	Formula	Jumlah Bakteri (cfu/mL)
1.	M1 (Molase 10 g/L + ZA 5 g/L)	$41,6 \times 10^8$
2.	M2 (Molase 10 g/L + ZA 10 g/L)	70×10^8
3.	M3 (Molase 5 g/L + ZA 5 g/L)	$118,3 \times 10^8$
4.	M4 (Molase 5 g/L + ZA 10 g/L)	47×10^8
5	M5 (NB 8 g/L)	$9,76 \times 10^8$

Untuk lebih jelasnya, jumlah bakteri yang tumbuh pada setiap formula dapt dilihat Gambar 1.



Gambar 1. Jumlah bakteri dalam formula M1, M2, M3, M4, dan M5.

Pembahasan

Jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas tertinggi dihasilkan pada formula media tumbuh M3 (Molase 5 g/L + ZA 5 g/L) yaitu $118,3 \times 10^8$ cfu/mL, dan yang terendah M5 (NB 8 g/L) yaitu $9,76 \times 10^8$ cfu/mL. Namun setelah data dianalisis secara statistik, terlihat jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula tidak berbeda nyata. Kelima formula dapat menumbuhkan *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas dengan baik. Perbanyak bakteri dengan menggunakan kombinasi antara molase (sebagai sumber karbon) dan ZA (sebagai sumber nitrogen) dapat digunakan untuk pertumbuhan pseudomonad fluoresen, walaupun konsentrasi pemberian molase dengan ZA berbeda antara yang satu dengan lainnya. Ashnaei *et al.*, (2008) melaporkan formula molase dan urea (sebagai sumber nitrogen) juga dapat memperbanyak *Pseudomonad fluoresen* P-5 dan *Pseudomonad fluoresen* P-6.

Pertumbuhan *Acetobacter xylinum* dalam pembuatan nata membutuhkan sumber nitrogen berupa ZA. Untuk meningkatkan polisakarida yang terbentuk, diperlukan peningkatan ZA yang

ditambahkan pada medium tumbuh bakteri ini. ZA sebagai sumber nitrogen merupakan faktor yang dapat merangsang pertumbuhan *A. xylinum* sehingga jumlah bakteripun meningkat. Konsentrasi ZA 0,8% dalam medium tumbuh mampu meningkatkan jumlah bakteri *A. xylinum* hingga 11,27 cfu/mL (Rossi dkk, 2008). Menurut Patria *et al.*, (2013) konsentrasi ZA 0,7% menghasilkan *nata de soya* paling tebal. Lapisan selulosa pada nata merupakan hasil sekresi sel bakteri *A. xylinum*.

KESIMPULAN

Formula media tumbuh M3 (Molase 5 g/L + ZA 5 g/L) menghasilkan jumlah bakteri *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas tertinggi yaitu $118,3 \times 10^8$ cfu/mL, dan yang terendah M5 (NB 8 g/L) yaitu $9,76 \times 10^8$ cfu/mL.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih diucapkan kepada ibu Dr. Linda Advinda, M. Kes. yang telah membimbing dalam penelitian ini dan juga kepada semua pihak yang telah membantu kelancaran penelitian.

DAFTAR RUJUKAN

- Addy, H. S. (2008). Pengaruh Sumber Karbon Terhadap Daya Antagonistik Bakteri *Pseudomonas Pendar-fluor* Terhadap *Erwinia carotovora*. *Jurnal Pengendalian Hayati*. Vol 1(12-16).
- Advinda, L., Fifendy, M., Anhar, A. (2018). The Addition of Several Mineral Sources on Growing Media of Fluorescent *Pseudomonad* for the Biosynthesis of Hydrogen Cyanide. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 335 012016.
- Advinda, L., Fifendy, M., dan Iryani. (2013). Penyimpanan Bakteri *Pseudomonad* Berfluoresensi Pada Beberapa Bahan Pembawa dan Uji Potensinya Sebagai Pengendali *Blood Disease Bacteria* (BDB) Tanaman Pisang. Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam. Padang : Universitas Negeri Padang.
- Advinda, L., Fifendy, M., Irdawati, dan Anhar, A.(2020). The Utilization of Coconut Water and Molasses as Fluorescent *Pseudomonad* Propagation Medium. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*, 19 (2): 25-28.
- Afreen, S. S. dan Lokeshappa B. (2014). *Production of Bacterial Cellulose from Acetobacter xylinum using Fruit Wastes as Substrate*. *The Internasional Journal of Science and Technoledge*, 2(8):57-64.
- Jatnika, Wiwik. Abadi, Abdul Latief. Aini, Luqman Qurata. (2013). Pengaruh Aplikasi *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Perkembangan Penyakit Bulai Yang Disebabkan Oleh Jamur Patogen *Peronosclerospora Maydis* Pada Tanaman Jagung. *Jurnal HPT*.Vol 1(4).
- Klement, Z., Rudolph, K., and Sands, D.C. (1990). *Methods in Phytobacteriology*. Akademia Kiado. Budapest.
- Patria, A., Muzaifa, M., dan Zurrahma. (2013). Pengaruh penambahan gula dan amonium sulfat terhadap kualitas *nata de soya*. *Jurnal Teknologi dan Industri Pertanian Indonesia*. Vol. 5(3): 1-5.
- Pramana. (2006). *Potensi molases di Indonesia Beserta Klasifikasi Penggunaannya*. Bandung: Pustaka Karya.

- Purwaningsih, S., Salamah, E., dan Setiani, A. (2007). Pengaruh Konsentrasi Sukrosa dan Ammonium Sulfat terhadap Mutu Nata Gracilaria Sp. *Buletin Teknologi Pertanian*, X (2): 30-36.
- Rossi, E., Pato, U., dan Damanik, S. R. (2008). Optimalisasi Pemberian Ammonium Sulfat terhadap Produksi Nata de Banana Skin. *Sagu*. 7 (2): 30-36.
- Sumantha, A., C. Larroche, dan A.Pandey. (2006). Microbiology and Industrial of foodgrade protease : A Perspectiv. *Food.Tecnology, Bioteknologi*.44,2, 211-220.