

PRODUKSI MASSAL AGENS HAYATI *Pseudomonad fluoresen* MENGUNAKAN MEDIUM AIR KELAPA

Linda Advinda

Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Padang - Sumatera Barat

ABSTRACT

This research had been done to know the mass production of Pf (Fluorescent Pseudomonads) in coconut liquid media. Randomized Complete Design (RCD) with 5 treatments and 3 replications was implemented in this research which consisted of 5 incubation periods: the 0, 2nd, 4th, 6th, and 8th weeks. The data gathered were analyzed by ANOVA and DNMRT (5% confidence level). As the result, the incubation period within 6 weeks in coconut liquid media gave good response to increase the mass production of Pf. On the other hand, the incubation period within 8 weeks gave bad response.

Key words: *Pseudomonad fluoresen*, mass production, coconut liquid

PENDAHULUAN

Pseudomonad fluoresen (Pf) dilaporkan berperan penting sebagai agens hayati pengendali penyakit yang disebabkan oleh patogen tular tanah, dan mampu hidup baik pada rizosfer ataupun filosfer (Campbell, 1989; Sige, 1993). Nakkeeran *et al.* (2005) mengemukakan keberhasilan suatu agens hayati mengendalikan penyakit harus mempunyai beberapa karakter, yaitu: berkemampuan yang tinggi berada di rizosfir, meningkatkan pertumbuhan tanaman, mudah diperbanyak, berspektrum luas, menyelamatkan lingkungan, kompatibel dengan rhizobacteria lainnya, toleran terhadap kekeringan, panas, dan radiasi UV.

Aplikasi Pf secara alami pada akar kentang dan gula bit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui penekanan mikroorganisme patogen dalam tanah (\pm 90%) kehilangan bakteri gram negatif termasuk pseudomonas yang menghasilkan hidrogen sianida, dan 65% kehilangan jamur rizosfir. Peran antagonis bakteri ini adalah sehubungan dengan sifat PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dan produksi siderofor (Kloepper *et al.* 1980; Sige, 1993). Zhou dan Paulitz *cit* Paulitz *et al.*, TT) melaporkan bahwa PGPR dapat mengurangi insiden penyakit, dan menambah biomasa pada bagian

atas dan bawah tanaman, termasuk meningkatkan jumlah buah tanaman ketimun. Vidhyasekaran *et al.* (1997) melaporkan *Pseudomonas fluorescens* Pfl dapat menghambat pertumbuhan patogen bercak padi (rice blast) *Pyricularia oryzae* secara *in vitro*.

P. fluorescens WCS 374 menginduksi ketahanan sistemik tanaman lobak terhadap layu Fusarium dengan kondisi Fe yang terbatas pada media tumbuh. Pf lainnya dapat menginduksi ketahanan sistemik (ISR) tanaman ketimun terhadap busuk akar *Pythium* oleh *Pythium aphanidermatum* (Leeman *et al.* 1996 dalam Press *et al.* 2001). Menurut Zhou dan Paulitz (1994 dalam Paulitz *et al.* TT) *P. aureofaciens* 63-28 dan *P. corrugata* 13 dapat menghambat penyebaran *P. aphanidermatum* dari sistem perakaran serta mengurangi zoospora dan perkecambahannya.

P. aeruginosa TNSK2 adalah kelompok mikroorganisme PGPR yang telah diisolasi dari perakaran tanaman gandum (Iswandi *et al.*, 1987 dalam Hofte *et al.* TT) dan merupakan agens hayati yang efektif terhadap patogen *Pythium splendens* pada perakaran tanaman tomat (Buysens, 1996 dalam Hofte *et al.*, TT). *P. aeruginosa* TNSK2 juga mampu menginduksi ketahanan sistemik tanaman buncis terhadap antraknosa yang disebabkan oleh *Colletotrichum lindemuthianum* (Hofte *et*

al. TT). Sedangkan Nawangsih *et al.* (1997) melaporkan bahwa *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39 dapat menekan populasi bakteri *Xanthomonas campestris* pv. *glycine* penyebab penyakit bisul bakteri pada tanaman kedelai di lapangan. Mulya (1997) melaporkan bahwa *P. fluorescens* Pfg32 mampu menekan penyakit layu bakteri *Ralstonia solanacearum*. Hasil uji *invitro* dan spektrofotometer menegaskan bahwa mekanisme antagonisnya adalah produksi antibiotik dan siderofor. Raaijmakers *et al.* (1999) menemukan bahwa produksi antibiotik 2,4-Diacetylphloroglucinol pada rizosfer tanaman gandum dipengaruhi oleh kemampuan *P. fluorescens* Q2-87 mengkolonisasi perakaran, dan total antibiotik yang dihasilkan sebanding dengan kepadatan populasinya pada rizosfer. Saravanan *et al.* (2004) melaporkan bahwa *P. fluorescens* dapat mengurangi diskolorasi jaringan pembuluh tanaman pisang oleh *Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense*.

Untuk menumbuhkan dan memperbanyak Pf diperlukan suatu media. Kloeper dan Schroth (1981, *cit* Cook dan Baker, 1983) memproduksi secara massal agens hayati ini dengan menggunakan xanthan gum sebagai media tumbuh. Media tumbuh yang terdiri dari 20% xanthan gum dapat memelihara bakteri selama dua bulan pada suhu 40°C, dan mudah diberikan ke biji-bijian. Sedangkan Weller dan Cook (1983 dalam Cook dan Baker, 1983) menyatakan bahwa populasi bakteri Pf mampu bertahan selama lima minggu di dalam media 1.5% metil selulosa, dan penyimpanan pada suhu 5°C.

Penelitian yang berkembang sampai saat ini masih menggunakan media agar padat dalam cawan petri untuk pertumbuhan dan perbanyakan *Pseudomonad fluoresen*. Untuk diperdagangkan, perlu menumbuhkan bakteri dalam media yang mempunyai efektifitas biakan yang sama dengan media agar padat tersebut.

Penelitian yang telah dilakukan memanfaatkan air kelapa sebagai medium perbanyakan Pf. Medium ini ketersediaannya cukup banyak, sehingga diharapkan dapat menjadi pilihan yang menjanjikan dalam usaha pengembangan media perbanyakan dalam rangka memproduksi secara massal agens hayati *Pseudomonad fluoresen*.

Di dalam air kelapa terkandung air sebanyak 91,23%, protein 0,29%, lemak

0,15%, karbohidrat 7,27%, serta abu 1,06%. Disamping itu terdapat juga nutrisi berupa sukrosa, dekstrosa, fruktosa, dan vitamin B kompleks (Palungkun, 1999). Pambayun (2003) menambahkan bahwa di dalam air kelapa terkandung protein yang disusun oleh 17 macam asam amino, dan juga mineral-mineral seperti K, Na, Mg, Ca, dan P.

METODE PENELITIAN

Pseudomonad fluoresen (Pf) yang digunakan adalah isolat Pj₁. Rancang-an yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan tersebut adalah masa inkubasi Pf dalam medium air kelapa, yaitu: A = masa inkubasi 0 minggu (kontrol), B = masa inkubasi 2 minggu, C = masa inkubasi 4 minggu, D = masa inkubasi 6 minggu, E = masa inkubasi 8 minggu.

Perbanyakan Pf

Isolat Pf yang telah diremajakan pada medium King's B dibiakkan pada 25 ml medium King's B cair dalam erlenmeyer 100 ml dan diinkubasi di atas shaker selama 24 jam (preculture). Diambil 1 mililiter *pre-culture*, kemudian dipindahkan ke dalam 24 ml medium King's B cair dan diinkubasi selama 3 x 24 jam di atas shaker.

Produksi Massal Pf dalam Medium Air Kelapa

Air kelapa sebanyak 49 ml dimasukkan ke dalam botol dan disterilkan dalam autoklaf suhu 121°C selama 15 menit. Setelah air kelapa tersebut dingin, dimasukkan 1 ml suspensi Pf (populasi 10⁸ sel/ml), dan diinkubasi sesuai perlakuan pada suhu ruang.

Pengamatan

Produksi massal Pf ditentukan dengan cara menghitung jumlah bakteri Pf dalam medium air kelapa, dan diamati 0, 2, 4, 6, 8 minggu setelah inkubasi. Kepadatan populasi dihitung menggunakan rumus Klement *et al.* (1990) sebagai berikut: $JB = A \times B$ dimana JB = jumlah bakteri per ml, A = jumlah koloni bakteri, B = faktor pengenceran

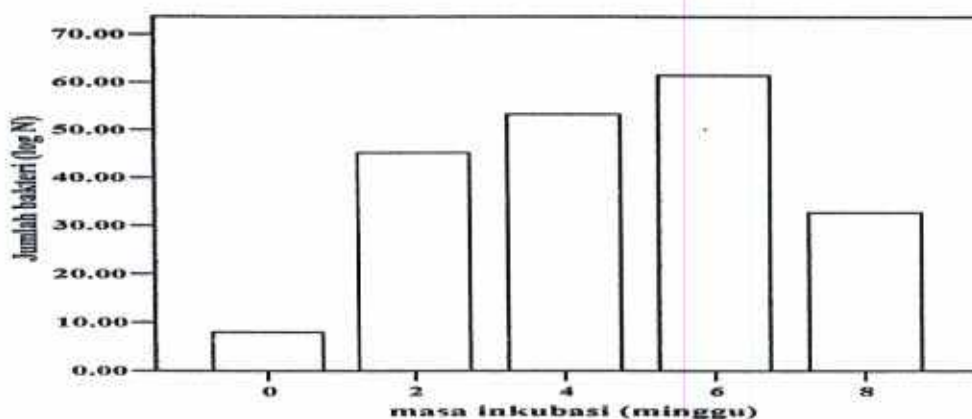
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis sidik ragam mengenai jumlah bakteri Pf dalam medium air kelapa pada masa inkubasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata. Tabel 1. memperlihatkan jumlah bakteri Pf pada masa inkubasi yang berbeda. Jumlah bakteri terbanyak

ditemukan pada masa inkubasi 6 minggu yaitu 61,49 (log n), dan jumlah bakteri terkecil ditemukan pada masa inkubasi 8 minggu yaitu 32,75 (log n). Untuk lebih jelasnya pertambahan jumlah bakteri Pf pada medium air kelapa dapat dilihat Gambar 1.

Tabel 1. Jumlah bakteri Pseudomonad fluoresen dalam medium perbanyak air kelapa

Perlakuan	Jumlah bakteri (log n)
A (0 minggu)	8,00 a
E (8 minggu)	32,75 b
B (2 minggu)	45,21 c
C (4 minggu)	53,27 d
D (6 minggu)	61,49 e



Gambar 1. Jumlah bakteri Pseudomonad fluoresen pada masa inkubasi berbeda

Air kelapa sebagai medium produksi massal Pf, mempunyai jumlah bakteri tertinggi pada masa inkubasi 6 minggu. Namun pada masa inkubasi 8 minggu, terjadi penurunan jumlah bakteri. Palungun (1999) mengemukakan, di dalam air kelapa terkandung nutrisi berupa karbohidrat 7,27 %, protein 0,29 %, dan lemak 0,15 %. Karbohidrat dapat menjadi sumber karbon bagi Pf dan protein sebagai sumber nitrogen. Hasil oksidasi karbohidrat menjadi sumber energi bagi Pf. Namun aktivitas ini dapat menghasilkan asam-asam organik dalam air kelapa. Menurut Alexander (1978) asam-asam organik dalam suatu medium tumbuh bakteri dapat menurunkan pH. Asam-asam organik tersebut diantaranya asam sitrat, glutamat,

suksinat, laktat, oksalat, malat, dan fumarat. Abouseoud *et al.*, (2007) mengemukakan turunnya pH dapat menghambat pertumbuhan Pf.

Pada proses kehidupan bakteri, terjadi beberapa fase pertumbuhan seperti fase lag, eksponensial, stasioner, dan kemunduran (kematian). Fase lag merupakan waktu adaptasi dari bakteri, dimana belum ada pertumbuhan. Peningkatan kecepatan pertumbuhan bakteri terjadi pada fase eksponensial. Fase stasioner merupakan titik dimana kecepatan pertumbuhan menjadi nol. Setelah beberapa saat dalam fase stasioner, angka kematian bakteri bertambah sehingga mencapai suatu tingkat yang stabil. Pada penelitian ini, fase kemunduran (kematian) dari Pf terjadi setelah masa

inkubasi 6 minggu. Penurunan kepadatan populasi Pf ini dapat disebabkan nutrisi yang tersedia di dalam air kelapa sudah mulai berkurang dan terjadi akumulasi sisa metabolisme yang menjadi toksik bagi kehidupan Pf (Jawetz, *et al.* 1995).

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut: Produksi massal Pf dalam medium air kelapa terbanyak pada masa inkubasi 6 minggu yaitu 61,49 (log n). 2. Produksi massal Pf dalam medium air kelapa paling sedikit pada masa inkubasi 8 minggu yaitu 32,75 (log n).

Disarankan untuk penelitian lebih lanjut tentang efektifitas Pf dalam medium air kelapa ini dalam mengendalikan penyakit tanaman.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

- Abouseoud M, Maachi R, Amrane, A. 2007. Biosurfactant Production from olive oil by *Pseudomonas fluorescens*. Communicating Current Research and Educational Topics and Trends in Applied Microbiology A. Méndez-Vilas (Ed.) <http://www.formatex.org/microbio/pdf/Pages/340-347.pdf>
- Campbell R. 1989. *Biological Control of Microbial Plant Pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Cook RJ, Baker KF. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. APS PRESS. St. Paul. Minnesota.
- Hofte M, Bigirimana, J, De Meyer G, Audenaert K. (diakses April 2004). Induced Systemic Resistance in Tomato, Tobacco and Bean by *Pseudomonas aeruginosa* 7NSK2: Bacterial Determinants, Signal Transduction Pathways and Role of Host Resistance. <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf/manuscripts/hofte.pdf>
- Mulya K. 1997. Penekanan Perkembangan Penyakit Layu Bakteri Tomat oleh *Pseudomonas fluorescens* PfG32. *J. Hort.* 7(2):685-691.
- Nakkeeran S, Fernando, WGD, Siddiqui ZA. 2005. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations and Its Scope in Commercialization for the Management of Pests and Diseases Z.A. Siddiqui (ed.), *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*, 257-296. ©2005 Springer, Dordrecht, The Netherlands
- Nawangsih AA, Thahjono B, Suwanto A, Aswidinnoor. 1997. Keefektifan *Pseudomonas fluorescens* B29 dan B39 Dalam Menekan Penyakit Bisul Bakteri Pada Kedelai di Lapangan. *Buletin Hama dan Penyakit Tumbuhan* 9 (2):1-7.
- Palungkun R. 1999. *Aneka Produk Olahan Kelapa*. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Pambayun R. 2002. *Teknologi Pengolahan Nata de Coco*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Paulitz TC, Chen C, Belanger R, Benhamou, N. *Induced Systemic Resistance by Pseudomonas spp Against Pythium Root Rot*. <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdf/manuscripts/paulitz.pdf>. (diakses April, 2004).
- Press CM, Loper JE, Kloepper JW. 2001. Role of Iron in Rhizobacteria-Mediated Induced Systemic Resistance of Cucumber. *Phytopathology* 91(6):593-598
- Raaijmakers JM, Bonsall RF, Weller DM. 1999. Effect of Population Density of *Pseudomonas fluorescens* on Production of 2,4-Diacetylphloroglucinol in the Rhizosphere of Wheat. *Phytopathology* 89(6):470-475.
- Sigee DC. 1993. *Bacterial Plant Pathology*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Vidhyasekaran P, Rabindran R, Muthamilan M, Nayar, K., Rajappan, K., Subramanian N, Vasumathi, K. 1997. Development of a powder formulation of *Pseudomonas fluorescens* for control of rice blast. *Plant Pathology* 46, 291-297.