

Isolasi Pseudomonas Fluoresen dari Rizosfir Tanaman Pisang *Isolation of Fluorescent Pseudomonas from Banana Rhizosphere*

Intan Febriani ¹⁾, Putri Wulandari ¹⁾, Rahma Yulita ¹⁾, Linda Advinda ¹⁾, Junaidi ²⁾, Priyanti ²⁾

¹⁾Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang
Jl. Prof. Dr. Hamka Air Tawar Barat, Kecamatan Padang Utara, Kota Padang

²⁾Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta
Jl. Ir H. Juanda No. 9, Cemp. Putih, Kota Tangerang Selatan, Banten

Email: intanfebriani2201@gmail.com

ABSTRAK

Pseudomonad fluoresen telah dimanfaatkan sebagai agen biokontrol karena kemampuannya dalam menekan populasi patogen yang diasosiasikan dengan kemampuannya melindungi akar dari serangan patogen tanah dengan mengkolonisasi permukaan akar dan menghasilkan senyawa kimia seperti antibiotik. Pseudomonad fluoresen merupakan bakteri rizosfir yang potensial dikembangkan sebagai agen hayati pengendali penyakit tanaman. Pseudomonad fluoresen dapat diisolasi dari rizosfir berbagai jenis tanaman. Tujuan penelitian ini ialah untuk mengisolasi pseudomonad fluoresen pada rizosfir pisang dan mengamati secara makroskopis. Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2022 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam inkubasi. Pseudomonad fluoresen yang tumbuh diamati secara langsung dan dideskripsikan. Berdasarkan hasil penelitian pseudomonad fluoresen yang diisolasi dari perakaran pisang menunjukkan bakteri yang tumbuh yaitu pada pengenceran 10^{-7} dan memiliki ciri tepi koloni rata atau halus, bentuk koloni bulat, serta permukaan koloni yang cembung. Pseudomonad fluorescent ini membentuk pigmen fluorescent yang berwarna kuning kehijau-hijauan yang terdifusikan dalam medium.

Kata kunci : Pseudomonad fluoresen, Rizosfir, Tanaman Pisang

PENDAHULUAN

Tanaman Pisang merupakan komoditas unggul yang sangat potensial yang cukup komersial diproduksi. Pisang menempati urutan pertama diantara jenis buah lainnya di Indonesia dari sebaran, luas pertanaman dan dari segi produksinya (Nurhayati *et al.*, 2021). Tanaman pisang di Indonesia baru-baru ini mengalami penurunan produksi akibat sakit pada pisang. Penyakit pada pisang salah satunya yaitu penyakit layu fusarium, penyakit darah dan penyakit kerdil sehingga tanaman pisang mati disebabkan pada area tanah yang tercemar oleh penyakit yang sangat sulit teratasi (Widiatmaka *et al.*, 2019).

Tanah adalah komponen alami yang terbentuk dari interaksi iklim, relief, bahan induk, waktu dan organisme (Taisa *et al.*, 2021). Tanah merupakan studi tentang biota (organisme) yang hidup dan beraktivitas di dalam tanah yang melakukan aktivitas metabolismenya, perannya dalam aliran energi dan siklus hara berkaitan erat dengan produksi bahan organik primer (Kemas, 2005). Kadar kualitas tanah meningkat dengan adanya organisme tanah terutama pada rhizosfer. Menurut Zaman *et al.*, (2021) rhizosfer

adalah zona tanah yang berada disekeliling perakaran tanaman yang mendukung kehidupan komunitas bakteri yang beragam jenis. Salah satu bakteri tanah yang terdapat pada rhizosfer tanaman adalah *Pseudomonad fluorensen*.

Pseudomonad fluorensen merupakan bakteri rhizosfer yang potensial dikembangkan sebagai agen hayati penginduksi tanaman. *Pseudomonas fluorensen* memiliki kemampuan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman sehingga tanaman tumbuh lebih baik dan terhindar dari penyakit (Wardhika *et al.*, 2014). Menurut (Advinda, 2020 dan Advinds *et al.*, 2022) *pseudomonad fluorensen* salah satu agen biokontrol yang dapat diisolasi dari perakaran tanaman. *Pseudomonad fluorensen* dapat diisolasi dari rhizosfer berbagai jenis tanaman. Rizosfir yang terdapat di antara serabut perakaran tanaman dipengaruhi oleh eksudasi perakaran dan mikroorganismen tanah (Sukmadi, 2013). Rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman secara kompetitif menjajah akar tanaman, merangsang pertumbuhan tanaman serta mengurangi timbulnya penyakit tanaman (Hass dan Defago, 2005).

Kemampuan *pseudomonad fluorensen* menekan populasi patogen diasosiasikan dengan kemampuannya melindungi akar dari infeksi patogen tanah. Advinda (2004) menunjukkan *pseudomonad fluorensen* isolat Pfpj1 mampu menghambat pertumbuhan Blood Disease Bacteria (BDB), dan juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang. Advinda *et al.*, (2017) menjelaskan patogen penyakit tular tanah dapat menyerang tanaman pisang melalui sistem perakarannya, dan salah satu penyakit yang menyerang tanaman pisang tersebut adalah penyakit darah dan disebabkan oleh BDB. Selanjutnya . Fifendy dan Advinda (2007) menyatakan ditemukan 10 isolat yang mencirikan bakteri *pseudomonad fluorensen* dari daerah perakaran beberapa jenis tanaman, dan karakter fisiologis setiap isolat memperlihatkan perbedaan kualitas pigmen fluoresens yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan bakteri rizosfir *pseudomonad fluorensen*. Bakteri ini memiliki kemampuan memproduksi pigmen yang dapat dilepas ke lingkungan sekitarnya. Pigmen tersebut bersifat antibiotik, yakni *pyoverdin* (Pyd) atau *pseudobactin* (Haas dan Défago, 2005). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi *pseudomonas fluorensen* pada rizosfir pisang dan mengamati secara makroskopis.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif.

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2022 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah cawan petri, tabung reaksi, rak tabung reaksi, *beaker glass*, batang pengaduk, spatula, gelas ukur, *erlenmeyer*, pipet tetes, jarum ose, pinset, mikropipet, tip, lampu spiritus, kompor listrik, *vortex*, *water bath*, *oven*, *autoclave*, *shaker*, plastik ukuran 1 kg, *aluminium foil*, plastik wrap, kertas label, spidol, kamera *handphone*, pisau, kain kasa, kertas cakram, gelas objek, gelas penutup, *petridish*, mikroskop, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), refrigerator, timbangan, inkubator, shaker, jangka sorong, pengaduk semen/sendok, dan alat tulis.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanah pada perakaran tanaman pisang, *Natrium agar* (NA), *Nutrien broth* (NB), King's B (KB), Alkohol 70%, skala 1 MC Farland's, gliserol, dan aquades steril.

Metode

Isolasi pseudomonas fluoresen pada rizosfir tanaman pisang

Sampel tanah diambil di dekat perakaran atau yang menempel pada akar tanaman pisang dengan cara membongkar dengan menggunakan pengaduk semen sendok sampai kedalaman ± 10 cm dan diambil sebanyak 100 g kemudian dimasukkan ke dalam kantong plastik. Tanah tersebut ditimbang sebanyak 1 g kemudian dimasukkan ke dalam 9 mL aquades steril dan dihomogenkan menggunakan *vortex*. Kemudian suspensi diencerkan secara seri sampai pengenceran 10^{-8} . Selanjutnya dipipet 1 mL suspensi (pengenceran 10^{-7} , 10^{-8}) dan dimasukkan ke dalam cawan petri steril. Selanjutnya suspensi tersebut dituang dengan medium King's B padat yang dicairkan dan dihomogenkan dengan cara memutar petri seperti angka delapan. Biakan diinkubasi secara terbalik pada suhu ruang selama 2 x 24 jam. Ciri dari bakteri pseudomonad fluoresen adalah memproduksi pigmen fluoresens pada medium King's B padat.

Pemurnian isolat pseudomonad fluoresen dilakukan dengan cara mengambil satu ose koloni berfluoresen yang telah dibiakkan, kemudian menggoreskan pada cawan petri yang telah berisi medium King's B padat dengan metode gores. Selanjutnya diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu ruang. Tujuan dari pemurnian isolat adalah untuk memisahkan inokulum yang terdiri dari banyak koloni bakteri yang berbeda-beda sehingga didapat koloni bakteri yang murni dari setiap biakan.

Peremajaan dan perbanyakkan isolat pseudomonad fluoresen

Isolat-isolat yang telah dimurnikan diremajakan dalam cawan petri berisi medium NA dengan metode gores dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Selanjutnya perbanyakkan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian

dibiakkan dalam 25 mL medium NB di dalam *erlenmeyer* 100 mL dan di shaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

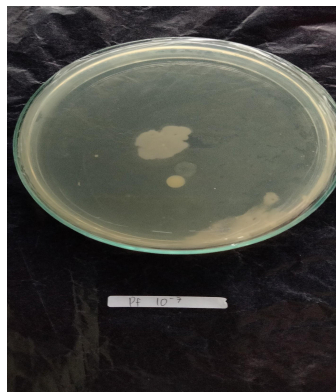
Pengamatan

Pengamatan dilakukan setelah 48 jam inkubasi. *Pseudomonas fluorescens* yang tumbuh diamati secara makroskopis dan dideskripsikan.

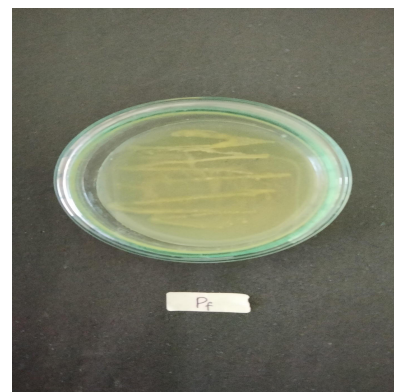
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi *pseudomonas fluorescens* pada rizosfir tanaman pisang. *Pseudomonas fluorescens* merupakan agen hayati yang dapat diisolasi dari daerah permukaan akar tanaman (Ferfinia, 2010). Kemampuan *pseudomonas fluorescens* menekan populasi patogen diasosiasikan dengan kemampuannya melindungi akar dari infeksi patogen tanah.

Cara mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh BDB adalah memanfaatkan agen biokontrol yang dapat menghambat pertumbuhan patogen. Salah satu agen biokontrol tersebut yaitu kelompok *pseudomonas fluorescens* (Advinda *et al.*, 2017). Hasil penelitian yang telah dilakukan pada *pseudomonas fluorescens* terlihat bahwa ciri yang mencolok adalah kemampuannya menghasilkan pigmen pyoverdine atau fenazine pada medium King's B sehingga terlihat berpijar bila terkena sinar ultraviolet (Suada, 2017).



Gambar 1. Bentuk koloni *pseudomonas fluorescens* pada medium King's B



Gambar 2. *Pseudomonas fluorescens* setelah diremajakan dengan metode gores

Pseudomonas fluorescens telah dimanfaatkan sebagai agen biokontrol karena kemampuannya dalam menekan populasi patogen diasosiasikan dengan kemampuannya melindungi akar dari serangan patogen tanah dengan mengkolonisasi permukaan akar dan menghasilkan senyawa kimia seperti antibiotik terhadap penyerapan Fe (Supriadi, 2006).

Pada penelitian menggunakan suspensi pengenceran 10^{-7} dan 10^{-8} . Berdasarkan pengamatan menunjukkan bakteri yang tumbuh yaitu pada pengenceran 10^{-7} sedangkan pada pengenceran 10^{-8} tidak tumbuh. koloni bakteri yang tumbuh memiliki ciri-ciri tepi koloni rata atau halus, bentuk koloni bulat, warna koloni putih sedikit kekuningan maupun agak krem, serta permukaan koloni yang cembung seperti yang terlihat pada (gambar 1). *Pseudomonas fluorescens* ini membentuk pigmen fluorescent yang berwarna kuning kehijau-hijauan yang terdifusikan dalam medium. Brenner *et al.*, (2005) mengatakan bahwa bakteri memiliki berbagai aktivitas biokimia untuk pertumbuhan dan perbanyakan dengan menggunakan nutrisi yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Selanjutnya (gambar 2) dilakukan peremajaan pseudomonad fluoresen dengan menggunakan metode gores, untuk mendapatkan koloni bakteri yang lebih murni.

Populasi bakteri pseudomonad fluoresen yang tinggi pada daerah perakaran akan lebih dapat menekan populasi patogen penyebab penyakit layu (Wuryandari, *et al.*, 2015). Nurcahyanti *et al.*, (2013) menyebutkan 230 isolat *Pseudomonas fluorescens* berhasil diisolasi dari risosfir pada 14 HST dan 454 isolat pada 28 HST. Semua isolat *P. fluorescens* mampu menghambat *Ralstonia solanacearum* dengan zona hambatan antara 1 mm sampai lebih dari 7 mm. Semua isolat mempunyai mekanisme penghambatan bakteriostatik. Sebanyak 10 isolat *P. fluorescens* mempunyai daya hambat besar, tidak saling menghambat satu dengan yang lain dan penghambatan terhadap *R. solanacearum* yang terjadi karena adanya kompetisi nutrisi.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa pseudomonad fluoresen yang di isolasi pada perakaran tanaman pisang mampu tumbuh pada medium King's B dengan pengenceran 10^{-7} , dan memiliki ciri tepi koloni rata atau halus, bentuk koloni bulat, serta permukaan koloni yang cembung. *Pseudomonad fluorescens* ini membentuk pigmen fluorescent yang berwarna kuning kehijau-hijauan yang terdifusikan dalam medium.

Saran

Disarankan untuk dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pseudomonad fluoresen pada perakaran tanaman tidak hanya tanaman pisang, sehingga informasi ini bisa bermanfaat bagi petani untuk menekan serangan penyakit pada tanaman.

REFERENSI

Advinda, L. 2004. Tanggap Pertumbuhan Tanaman Pisang yang Telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas* berfluoresensi Terhadap *Ralstonia solanacearum*. *Disertasi* : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas

Andalas Padang

- Advinda, L. 2020. Pseudomonad Fluoresen Agents Biokontrol *Blood Disease Bacteria* (BDB) Tanaman Pisang. *In Monograf*. Deepublish.
- Advinda, L., Habazar, T., Syarif, A., Mansyurdin., Putra, D.P. 2007. Aktivitas Enzim Pertahanan Bibit Pisang yang Diinduksi dengan Pseudomonad fluoresens. *Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati*. Vol. 03. No. 02. Oktober 2007
- Advinda, L, Putri, D.H, Anhar, A, Irdawati, I. (2022). Identification And Characterization Of Fluorescent Pseudomonas Producing Active Compounds Controlling Plant Pathogens. *Yuzuncu Yil University Journal Of Agricultural Sciences*. 32 (4). 795-804
- Brenner, D. J. Krieg, N. R. dan Staley , J. T. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology 2nd edition*. volume 2. Springer. New York.
- Ferfinia, Anggie. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer Yang Berasosiasi Dengan Penyakit Busuk Basah Pada Batang Pepaya (*Carica papaya L.*) di Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. *Skripsi* : Departemen Proteksi Tanaman . Institut Pertanian Bogor.
- Fifendy, M., dan Advinda, L. 2007. *Isolasi dan Karakterisasi Agens Biokontrol Pseudomonas Berfluoresensi dari Rhizosfir Tanaman*. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.
- Haas D, dan G. Defago. 2005. Biological Control Of Soil-borne Pathogens by Fluorescent Pseudomonads. *Natural Review of Microbiology* 3 : 307-319.
- Kemas et al., 2005. *Biologi Tanah*. PT Raja Grafindo Persada: Jakarta.
- Nurchayanti, S. D., Arwiyanto, T., Indradewa, D., dan Widada, J. 2013. Isolasi Dan Seleksi Pseudomonad Fluorescens Pada Risosfer Penyambungan Tomat. *Berkala Ilmiah Pertanian*, 1(1) : 15-18.
- Nurhayati, Soetrino, dan Akhiriani, S. 2021. *Tekno Ekonomi Pengolahan Limbah Kulit Pisang*. Unej Press.
- Suada, I Ketut. 2017. *Mikroba Potensial dalam Pengendalian Biologi Patogen Tumbuhan : Mengenal Mikroba Sahabat Petani*. Bali : Pelawa Sari
- Sukmadi, R. B. (2013). Aktivitas Fitohormon Indole-3-acetic Acid (IAA) dari Beberapa Isolat Bakteri Rizosfir dan Endofit. *J Sains dan Teknologi Indonesia*. 13 (3). 221-227
- Supriadi. 2000. Penyakit Layu Bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada Tumbuhan Obat dan Strategi Penanggulangannya. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Rempah : Bogor.

- Taisa, R., Purba, T., Sakiah, Herawati, J., Junaedi, A. S., Hasibuan, H. S., Junairiah, & Firgiyanto, R. 2021. *Ilmu Kesuburan Tanah dan Pemupukan*. Yayasan Kita Menulis.
- Wardhika CM, Suryanti & Joko T. 2014. Eksplorasi Bakteri Yang Berpotensi Sebagai Agens Pengendali Hayati *Fusarium solani* dan *Meloidogyne incognita* Pada Lada. *Jurnal Perlindungan Tanaman Indonesia*. 18(2) : 89-94.
- Widiatmaka, Purwito, A., Setiadi, D., Fuah, A. M., & Muljono, P. 2019. *Inovasi Pertanian Untuk Kesejahteraan Bangsa : dari Perencanaan sampai Diseminasi*. IPB Press.
- Wuryandari, Yenny. et al. 2015. Formula Berbahan Aktif *Pseudomonad* Fluoresen dan Pengaruhnya Terhadap Perkembangan Penyakit Layu Pada Cabai. *J. HPT Tropika*. Vol. 15, No. 1: 89 – 94
- Zaman, N., Arsi, Asril, M., Firgiyanto, R., Fajarfika, R., Wati, C., Sudarmi, N., & Zulfiyana, V. 2021. *Inovasi Produk Pertanian*. Yayasan Kita Menulis.