



Penggunaan Bahan Dasar Kedelai Sebagai Media Kultur Alternatif *Paenibacillus polymyxa*

Indah Meiliyanah Sari¹⁾, Sitti Nur Ilmiah²⁾

^{1), 2)} Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan, Universitas Billfath, Siman, Sekaran, Lamongan
YPP Al-Fattah, Siman, Sekan, Lamongan
Email: indahmeiliyanah@gmail.com

ABSTRACT

Paenibacillus polymyxa is commonly used to control some crops and horticulture diseases also can be used as agent biological fertilizer. Cheaper substrate from agriculture is therefore required, such as soybean, which is potential to be used as natural media for *P. polymyxa*. This study aimed to investigate alternative nutrient media that has potential for growth of *P. polymyxa*. The research method used Standard Plate Count (SPC) for obtained number of colony bacteria. Natural media for study used soybean soaking water mixed condensed milk and sugar. The tasted bacterial sample inoculated on that soybean fermented. *P. polymyxa* incubated on the soybean fermented media for 7 days. The result showed that soybean supported the growth of *P. polymyxa* population for about $1,3 \times 10^{11}$ Cfu/mL. Based on the results of the research it can be advised to do further research on natural media with nutrient source, such as carbohydrates and protein as an alternative media for growth process.

Keyword: Agen pupuk biologi, Media alami, Metode SPC, Kedelai, Pertumbuhan

PENDAHULUAN

Salah satu kendala yang dihadapi dalam upaya peningkatan produksi tanaman adalah serangan penyakit. Salah satu penyakit yang dapat menyerang tanaman adalah hawar daun. Penyakit ini mampu menyebabkan kerugian dan dampak penurunan produktivitas. Menurut Tuszahrohmi *et al.* (2019) pengendalian yang umum dilakukan oleh petani adalah secara kimia dengan menggunakan fungisida. Penggunaan fungisida yang berlebih, dapat menyebabkan kerugian yaitu menyebabkan matinya organisme yang bukan sasaran, berkurangnya keanekaragaman hayati, dan terganggunya ekosistem sehingga menyebabkan lingkungan tercemar. Salah satu alternatif yang aman dan ramah lingkungan adalah dengan pengendalian hayati berbasis mikroorganisme antagonis. Agen hayati mampu menghambat serangan patogen, dan mampu beradaptasi dan berkolonisasi pada perakaran tanaman. Selain itu juga dapat berfungsi sebagai PGPR (*Plant growth promoting rhizobacterium*) yang menginduksi ketahanan tanaman inang.

Bakteri *Paenibacillus polymyxa* merupakan bakteri yang memiliki peran sebagai agen hayati. Peran yang dimiliki tersebut karena kemampuan *P. polymyxa* dalam menghasilkan senyawa beracun bagi bakteri patogen tanaman. Strain *P. polymyxa* yang berasosiasi dengan spesies tanaman telah digunakan secara efektif dalam mengontrol fungi dan bakteri patogen tanaman. *P. polymyxa* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dan menekan serangan beberapa penyakit tanaman (Raza *et al.* 2008).

P. polymyxa merupakan agen hayati dari jenis bakteri yang diperoleh secara alami di lapangan. Bakteri ini dapat diperoleh dengan cara mengisolasi dari tanaman yang sehat diantara yang terserang penyakit, misalnya hawar daun bakteri. Bakteri *P. polymyxa* merupakan bakteri menguntungkan karena bersifat non patogen. Bakteri ini mampu menghasilkan antibiotik polimiksin. Antibiotik merupakan zat yang dihasilkan oleh mikroorganisme dan mempunyai daya hambat terhadap kegiatan mikroorganisme lain. Di bidang pertanian, *P. polymyxa* dapat ditemukan di tanah dan tanaman. Bakteri ini mampu mengikat nitrogen sehingga dapat menyuburkan tanaman. Selain itu, bakteri tersebut juga mampu menghasilkan eksopolisakarida pada akar tanaman yang berperan dalam melindungi tanaman dari patogen. Hasil uji yang telah dilakukan menunjukkan bahwa *P. polymyxa* juga mengandung hormon pengatur giberelin (Syamsiah 2015).

Menurut Kantikowati *et al.* (2018) bakteri *P. polymyxa* dapat digunakan untuk mengendalikan beberapa jenis penyakit baik pada tanaman pangan dan hortikultura. Dalam pemanfaatan agen hayati *P. polymyxa* dengan kepadatan koloni, maka akan dapat menekan massa bakteri patogen, misalnya *Xanthomonas campestris pv. Oryzae*. Pemanfaatan agen hayati tersebut juga dapat menunjang pertumbuhan tanaman karena dihasilkan hormon penting seperti hormon pemacu pertumbuhan tanaman (IAA), auksin, dan sitokinin.

Penggunaan sejumlah bahan alternatif media kultur telah memungkinkan untuk dilakukan. Media alternatif seperti biji kedelai alami mengandung bahan nutrisi. Beberapa penelitian difokuskan pada bahan alternatif media kultur. Penggantian media sintetik dilakukan untuk pertumbuhan bakteri dari bahan berbeda (Uthaya Sooriyan *et al.* 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kepadatan koloni agen hayati *P. polymyxa* yang dikultur dalam media alami untuk mengganti media sintetik yang tergolong mahal.

METODE PENELITIAN

Pelaksanaan penelitian pada tanggal 01 Februari sampai 02 Maret 2020 di Laboratorium Kantor Koordinator Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Wilayah Bojonegoro. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah isolat *P. polymyxa*, kedelai, susu kental manis, aquades, media *Nutrient Agar* (NA), media *Plate Count Agar* (PCA), dan alkohol 70%.

Penelitian disusun dalam menggunakan standar perhitungan koloni berupa *Standard Plate Count* (SPC). Melalui metode SPC dapat ditentukan persyaratan menghitung jumlah koloni yang mampu tumbuh pada media alami. Koloni yang didapatkan dihitung menggunakan rumus yang sudah ditentukan.

Perbanyak Inokulum P. polymyxa

Isolat murni yang digunakan merupakan koleksi dari Laboratorium Kantor Koordinasi Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Wilayah Bojonegoro. Stok yang ada diperbanyak menggunakan media NA miring dengan menggores pada agar miring tersebut. Inkubasi dilakukan selama 3 x 24 jam untuk menumbuhkan *P. polymyxa*.

Inokulasi P. polymyxa pada Media Alami

Inokulasi bakteri *P. polymyxa* pada media alami dilakukan dengan membuat media alami yang mengandung campuran air rebusan kedelai, susu kental manis, dan gula. Air rebusan kedelai dilakukan tiga kali rebusan dan dicampurkan dengan susu kental manis dan gula. Seluruh campuran tersebut dimasukkan dalam galon yang terisi sebanyak 9,5 liter aquades.

Dua tabung reaksi yang mengandung isolat *P. polymyxa* dilarutkan dengan aquades. Hasil yang didapatkan dimasukkan dalam galon fermentor untuk dilakukan fermentasi. Proses fermentasi dilakukan selama 7 hari untuk menumbuhkan bakteri tersebut.

Penghitungan Jumlah Koloni dalam Media Fermentasi

Jumlah koloni yang mampu tumbuh dalam media alami melalui fermentasi tersebut dilakukan penghitungan jumlah kepadatannya. Penghitungan jumlah tersebut mengikuti standar, yaitu *Standard Plate Count* (SPC). Dalam menghitung jumlah koloni *P. polymyxa* dapat dilakukan dengan pengenceran berseri. Pengenceran berseri digunakan dalam menentukan jumlah koloni yang ditumbuhkan dalam media agar padat pada cawan petri.

Pengenceran dilakukan dengan menyiapkan sampel bakteri yang berasal dari media alami. Pada pengenceran, digunakan seri pengenceran dari 10^{-1} hingga 10^{-9} . Sebanyak 1 mL sampel bakteri dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL aquades. Sampel tersebut diencerkan dalam aquades hingga pada seri 10^{-9} . Pada seri pengenceran 10^{-5} , 10^{-7} , dan 10^{-9} ditanam pada media agar padat cawan petri berupa PCA. Inkubasi dilakukan selama 2 x 24 jam pada suhu 35°C dalam menunjang pertumbuhan bakteri tersebut.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan isolat *P. polymyxa* dalam media alami menjadi kelebihan untuk melihat pengaruh bahan yang tersedia di alam dan relatif murah sebagai alternatif pengganti untuk aplikasi di lapangan. Peningkatan peran agen hayati *P. polymyxa* untuk mencegah patogen pada tanaman pertanian dan hortikultura harus mampu tumbuh dalam media alami. Hal ini disebabkan karena penggunaan media sintetik terlalu mahal dan jika

digunakan untuk industri skala besar akan berdampak pada biaya produksi. Biaya produksi dapat ditekan dengan mencari pengganti bahan pengganti yang tersedia di alam. Campuran bahan alami yang digunakan memiliki kandungan nutrisi sehingga dapat memenuhi kebutuhan bagi pertumbuhan *P. polymyxa*. Suwardiyono *et al.* (2019) menyatakan bahwa air rebusan olahan kedelai memiliki kandungan karbohidrat sebesar 0,11%, protein sebesar 0,42%, lemak sebesar 0,13%, fosfor sebesar 1,74%, dan 98,8% air. Mikroorganisme yang ditambahkan pada air rebusan hasil olahan kedelai akan membantu memperbaiki kondisi biologis tanah dan dapat membantu penyerapan unsur hara. Kondisi tersebut menunjukkan bahwa air rebusan kedelai yang biasanya bersifat limbah dapat digunakan sebagai penunjang pertumbuhan bagi *P. polymyxa*.

Untuk menunjang pertumbuhan mikroorganisme dalam media perbanyak juga perlu ditambahkan bahan lain yang bermanfaat. Pada media yang digunakan juga adanya pemanfaatan susu kental manis sebagai pelengkap untuk media alami. Tingginya kandungan nutrisi pada susu, menjadikan susu rentan mengalami kontaminasi mikrobiologis yang mampu memperpendek umur simpannya. Susu mampu meningkatkan populasi bakteri untuk berkembang dua kali lipat setiap 30 menit pada suhu 25°C, dimana pH berkisar antara 6,0-6,5. Susu kental manis merupakan produk olahan susu yang dapat meningkatkan umur simpan susu. Kandungan air bebas yang rendah pada susu kental manis menyebabkan tidak semua mikroorganisme dapat dihambat pertumbuhannya. Kandungan air bebas pada susu kental manis adalah 0,83 (Waziroh dan Wicaksana 2019).

Gula pada campuran media memiliki peran dalam memberikan nutrisi bagi *P. Polymyxa*. Substrat alami dengan tambahan gula dapat dimanfaatkan oleh bakteri tersebut. Safitri *et al.* (2016) menjelaskan bahwa peningkatan jumlah total gula yang difermentasi sejalan dengan meningkatnya jumlah bakteri yang tumbuh pada media fermentasi. Substrat gula yang dikonsumsi pada media digunakan oleh bakteri untuk pertumbuhan dan pemeliharaan sel, serta pembentukan asam-asam organik terutama asam laktat.

Berdasarkan hasil perhitungan koloni, diperoleh hasil $1,3 \times 10^{11}$ Cfu/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa campuran air rebusan kedelai, susu kental manis, dan gula dapat digunakan untuk pertumbuhan bagi isolat bakteri *P. polymyxa*. Jumlah koloni yang dihasilkan dari perhitungan menunjukkan kelayakan jika diaplikasikan oleh petani. Penelitian jumlah koloni *P. Polymyxa* juga diperoleh dari Riu dan Rego (2002) dengan hasil $3,1 \times 10^8$ Cfu pada lama inkubasi 7 hari. Hal ini menunjukkan bahwa dengan memanfaatkan campuran air rendaman kedelai, susu kental manis, dan gula menghasilkan kepadatan koloni jauh lebih tinggi. Kandungan bahan tersebut mampu meningkatkan pertumbuhan dan mengurangi penggunaan bahan sintetik yang mahal.

Hasil penelitian lain mengenai jumlah koloni *P. Polymyxa* juga diperoleh, yaitu total koloni 3×10^4 Cfu memiliki kemampuan dalam menekan pertumbuhan fungi pada

kacang. Ditemukan pula bahwa 10^4 sel per gr rhizosfer dari *P. Polymyxa* secara efisien melawan *A. niger* (Riu dan Rego 2002). Data yang diperoleh tersebut juga memberikan informasi bahwa jumlah koloni dari media fermentasi alami yang dilakukan memberikan pengaruh menguntungkan jika digunakan sebagai agen hayati dalam mengontrol pertumbuhan patogen pada tanaman.

PENUTUP

Berdasarkan hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa *P. polymyxa* mampu tumbuh dalam media alami dengan jumlah koloni $1,3 \times 10^{11}$ Cfu/mL. Hasil ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu diperbanyak dengan bahan yang ada di alam tanpa mengurangi kemampuannya. Hasil ini juga menunjukkan bahwa dalam media tumbuh tersebut, *P. polymyxa* layak diaplikasi oleh petani.

REFERENSI

Kontikowati, E, Haris, R, Karya & Anwar, S 2018, 'Aplikasi agen hayati (*Paenibacillus polymyxa*) terhadap penekanan penyakit hawar daun bakteri serta hasil dan pertumbuhan padi hitam (*Oryza sativa*) Var. lokal', *Paspalum : Jurnal Ilmiah Pertanian*, vol. 6, no. 2, hh. 134-142.

Raza, W, Yang, W & Shen, Q, R 2008, '*Paenibacillus polymyxa* : antibiotics, hydrolytic enzyme and hazard assessment', *Journal of Plant Pathology*, vol. 90, no. 3, hh. 419-430.

Riu, J, C & Rego, J, V 2002. 'Cytometric monitoring of growth, sporogenesis and spore cell sorting in *Paenibacillus polymyxa* (formerly *Bacillus polymyxa*)', *Journal of Applied Microbiology*, vol. 92, hh 475-481.

Safitri, N, Sunarti, T, C & Meryandini, A 2016, 'Formula media pertumbuhan bakteri asam laktat *Pediococcus pentosaceus* menggunakan substrat whey tahu', *Jurnal Sumberdaya Hayati*, vol. 2, no. 2, hh. 31-38.

Suardiyono, Maharani, F & Harianingsih 2019, 'Pembuatan pupuk organik cair dari air rebusan olahan kedelai menggunakan effective microorganism', *Inovasi Teknik Kimia*, vol. 4, no. 2, hh. 44-48. Syamsiah, M 2015, 'Efektifitas aplikasi *Paenibacillus polymyxa* dalam pengendalian penyakit hawar daun bakteri pada tanaman padi varietas mekongga', *Jurnal Agrosience*, vol. 5, no. 1, hh. 24-28.

Tuszahrohmi, N, Romadi, U & Kurniasari, I 2019, 'Efektivitas *Paenibacillus polymyxa* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam pengendalian penyakit haur daun (*Helminthosporium turcicum*) pada tanaman jagung (*Zea mays* L.)', *AGRIVIGOR*, vol. 12, no. 2, hh 77-81.

Uthayasooriyan, M, Pathmanathan, S, & Ravimannan 2016, 'Formulation of alternative culture media for bacterial and fungal growth', *Der Pharmacia Lettre*, vol. 8, no. 1, hh. 431-436.

Waziroh, E & Wicaksana, L, I 2019, 'Sugar water ratio sebagai titik kendali kritis pada proses produksi susu kental manis: studi kasus di perusahaan X', *Jurnal Pangan dan Agroindustri*, vol. 7, no. 1, hh. 12-17.