

**POTENSI PSEUDOMONAD BERFLUORESEN DALAM BERBAGAI
BAHAN PEMBAWA TERHADAP *BLOOD DISEASE BACTERIA* (BDB)
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

*Diajukan kepada Tim Penguji Skripsi Jurusan Biologi sebagai salah satu
persyaratan Guna memperoleh Gelar Sarjana Sains*



**NURHASANAH
17480/2010**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2015**

PERSETUJUAN SKRIPSI

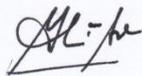
**POTENSI PSEUDOMONAD BERFLUORESEN DALAM BERBAGAI
BAHAN PEMBAWA TERHADAP *BLOOD DISEASE BACTERIA* (BDB)
SECARA *IN VITRO***

Nama : Nurhasanah
NIM : 17480/2010
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 02 Juli 2015

Disetujui Oleh:

Pembimbing I



Dr. Linda Advinda, M.Kes.
NIP. 19610926 198903 2 003

Pembimbing II



Drs. Mades Fifendy, M. Biomed.
NIP. 19571130 198802 1 001

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

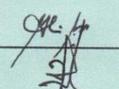
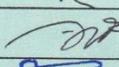
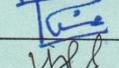
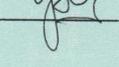
Dinyatakan Lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi
Program Studi Biologi Jurusan Biologi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Negeri Padang

Judul : Potensi pseudomonad Berfluoresen dalam berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB) Secara *In vitro*

Nama : Nurhasanah
NIM : 17480/2010
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 10 Juli 2015

Tim Penguji

	Nama	Tanda Tangan
1. Ketua	: Dr. Linda Advinda, M.Kes.	1. 
2. Sekretaris	: Drs. Mades Fifendy, M.Biomed.	2. 
3. Anggota	: Irdawati, S.Si., M.Si.	3. 
4. Anggota	: Dr. Azwir Anhar, M.Si.	4. 
5. Anggota	: Dr. Yuni Ahda, M.Si.	5. 

SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Nurhasanah
NIM/TM : 17480/2010
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul: **“Potensi Pseudomonad Berfluoresen dalam Berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *In Vitro*”** adalah benar merupakan hasil karya saya dan bukan merupakan plagiat dari karya orang lain. Sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya, pendapat yang ditulis atau diterbitkan orang lain kecuali sebagai acuan atau kutipan dengan mengikuti tata penulisan karya ilmiah yang lazim.

Demikianlah pernyataan ini saya buat dengan penuh kesadaran dan penuh rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

Padang, 10 Juli 2015

Mengetahui

Ketua Jurusan Biologi



Dr. Azwir Anhar, M.Si.
NIP. 19561231 198803 1 009

Saya yang menyatakan,



METERAI
TEMPEL
698BEADF332474406
5000
ENAM RIBURUPIAH

Nurhasanah
NIM. 17480/2010

ABSTRAK

Nurhasanah: Potensi *Pseudomonad* Berfluoresen dalam Berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB) Secara *In vitro*

Infeksi yang disebabkan *Blood Disease Bacteria* (BDB) pada pisang menyebabkan kematian tanaman induk atau buah menjadi rusak akibat massa bakteri berupa lendir berwarna kemerahan yang menginfeksi. Salah satu upaya pengendalian BDB menggunakan agens hayati misalnya *Pseudomonad* berfluoresen yang cenderung tidak stabil dalam laboratorium. Untuk mempertahankan viabilitas dan kemampuannya perlu disimpan dalam formula bahan pembawa, baik yang bersifat organik maupun anorganik yang ditambah dengan gliserol sebagai penstabil. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi *Pseudomonad* berfluoresen pada berbagai bahan pembawa yang ditambah gliserol dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* secara *In vitro*.

Penelitian dilakukan bulan Mei hingga Juli 2013 di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, FMIPA UNP. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan dan 3 kali ulangan. Perlakuan yang diberikan yaitu A (Isolat Pfpj1+ Tepung tapioka), B (Isolat Pfpj2+ Tepung tapioka), C (Isolat Pfpj3+ Tepung tapioka), perlakuan D (Isolat Pfpj1+ Talkum), E (Isolat Pfpj2+ Talkum), F (Isolat Pfpj3+ Talkum), G (Isolat Pfpj1+ Tanah), H (Isolat Pfpj2+ Tanah), I (Isolat Pfpj3+ Tanah) dan masing-masing perlakuan ditambahkan gliserol sebanyak 0,03 mL. Parameter yang diamati adalah besar zona hambat *Pseudomonad* berfluoresen terhadap BDB secara *In vitro* yang dilakukan pada preservasi hari ke-10, 20, 30, 40, 50, 60. Data zona hambat dianalisis dengan ANOVA taraf 5%.

Dilihat dari besarnya zona hambat perlakuan A memiliki diameter zona yang lebih besar. Sedangkan untuk analisis secara statistik menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata dari hari pengamatan ke 10 hingga hari ke 60 sehingga hasil yang didapatkan semua perlakuan memiliki potensi yang sama dalam mengendalikan BDB secara *In vitro*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat serta karuniaNya penulis dapat menyelesaikan skripsi tentang “Potensi *Pseudomonad* Berfluoresen dalam Berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *Invitro*”.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan guna memperoleh gelar Sarjana Sains pada Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang.

Penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini, antara lain:

1. Ibu Dr. Linda Advinda, M.Kes., pembimbing I dan Bapak Drs. Mades Fifendy, M.Biomed., pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, saran dan arahan selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
2. Ibu Irdawati, S.Si., M.Si., dan Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si., tim dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Bapak Dr. Azwir Anhar, M.Si selaku Penasehat Akademik dan penguji yang telah memberikan arahan dan saran selama kuliah kepada penulis.
4. Ketua Program Studi dan seluruh dosen Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.
5. Staf Tata Usaha dan laboran Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Padang.

6. Semua keluarga dan rekan-rekan mahasiswa yang telah memberikan bantuan, semangat dan dorongan demi kesempurnaan skripsi ini.

Mudah-mudahan semua bantuan yang telah diberikan mendapat balasan dari Allah SWT. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Amin...

Padang, 10 Juli 2015

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iv
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	vii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Batasan Masalah.....	8
D. Hipotesis Penelitian.....	8
E. Tujuan Penelitian	8
F. Kontribusi Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. <i>Blood Disease Bacteria</i>	9
B. Pseudomonad berfluoresen	11
C. Talkum	12
D. Tanah.....	13
E. Tapioka.....	14
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	15
B. Waktu dan Tempat Penelitian	15
C. Rancangan Penelitian	15
D. Alat dan Bahan.....	15
E. Prosedur Penelitian.....	16
1. Persiapan Penelitian	16

2. Pelaksanaan Penelitian	20
3. Pengamatan	21
F. Teknik Analisis Data.....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Hasil	22
B. Pembahasan.....	23
BAB V PENUTUP	
A. Kesimpulan	27
B. Saran.....	27
DAFTAR PUSTAKA	28
LAMPIRAN.....	30

Daftar Gambar

Gambar

Halaman

Grafik rerata zona hambat Pf selama 60 hari23

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Analisis statistik diameter zona hambat <i>Pseudomonad</i> berfluoresen dalam mengendalikan <i>Blood Disease Bacteria</i> (BDB) secara <i>Invitro</i>	31
2. Dokumentasi Penelitian.....	49
3. Zona hambat <i>pseudomonad</i> berfluoresen dalam mengendalikan <i>Blood Disease Bacteria</i> (BDB) secara <i>Invitro</i>	52

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar belakang

Indonesia yang terletak di daerah tropis memiliki biodiversitas yang sangat tinggi termasuk beragam jenis mikroorganisme yang tersebar di alam, baik di perairan maupun daratan dengan jumlah yang banyak. Pada tahun 2004 telah diketahui bahwa jumlah spesies mikroorganisme, khususnya bakteri mencapai 1.600 spesies yang pada umumnya bersifat saprofit (Habazar dan Rivai, 2004). Namun beberapa spesies bakteri merupakan penyebab penyakit baik pada manusia, hewan dan tumbuhan. Salah satu jenis bakteri yang bersifat patogen pada tanaman adalah *Blood Disease Bacteria* (BDB) yang merupakan penyebab penyakit darah pada tanaman pisang (*Musa paradisiaca*) di Indonesia (Supriadi, 2011).

Penyakit darah yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) sangat merugikan bagi petani pisang, karena produktifitas tanaman pisang akan menurun akibat infeksi BDB. Marwan *et.al*, (2011) mengemukakan bahwa infeksi BDB pada tanaman pisang dapat menyebabkan kematian tanaman induk atau buah menjadi rusak, karena terdapat lendir berwarna kemerahan di dalamnya akibat massa bakteri yang menginfeksi buah pisang.

Berbagai upaya pengendalian BDB telah dilakukan, antara lain melalui sanitasi dengan cara mengangkat bonggol yang terinfeksi BDB, dan aplikasi herbisida untuk membunuh tanaman yang terserang (Supriadi, 2005 *dalam* Nawangsih, 2007). Penggunaan senyawa kimia dalam bentuk bakterisida

efektivitasnya tergolong rendah, dan ada beberapa jenis antibiotika dilaporkan cukup efektif untuk pengendalian penyakit tanaman yang disebabkan oleh bakteri (Habazar dan Rivai, 2004). Meskipun pengendalian penyakit tanaman menggunakan bahan kimia terbilang berhasil, namun hal tersebut memberikan dampak negatif terhadap lingkungan dan manusia (Novizan, 2002 *dalam* Harahap, 2011). Melihat kondisi tersebut perlu adanya usaha lain untuk mengendalikan penyakit tanaman yang murah, aman serta tidak menimbulkan kerusakan lingkungan.

Cara yang paling aman dalam mengendalikan patogen penyakit tanaman adalah menggunakan agens pengendali hayati. Agens pengendali hayati merupakan organisme yang menggunakan suatu organisme patogen sebagai sumber nutrisinya dan sering disebut sebagai musuh alami, organisme bermanfaat, atau sebagai biokontrol (Habazar dan Yaherwandi, 2006). Pengendalian secara hayati (khusus terhadap patogen penyebab penyakit tanaman) merupakan suatu usaha untuk mengurangi atau menekan kepadatan populasi patogen ataupun mengurangi aktivitasnya dan bukanlah bermaksud untuk memusnahkan sama sekali patogen tersebut (Chatri, 2006). Pengendalian patogen tanaman menggunakan agens hayati adalah salah satu alternatif pengendalian yang diharapkan dapat mengatasi masalah tersebut (Chrisnawati, 2011).

Salah satu mikroorganisme yang berperan sebagai antagonis terhadap patogen adalah *Pseudomonad berfluoresen*. Kelompok *Pseudomonad berfluoresen* banyak diteliti sebagai agens hayati, dan hasil penelitian menunjukkan kelompok tersebut cukup efektif bagi beberapa jenis patogen. *Pseudomonad berfluoresen*

dilaporkan mampu menginduksi ketahanan berbagai jenis tanaman terhadap berbagai patogen baik yang bersifat tular tanah ataupun patogen filoplan (Habazar dan Rivai, 2004).

Beberapa galur *Pseudomonas fluorescens* telah dilaporkan mampu menekan gejala penyakit yang disebabkan oleh patogen tular tanah. Galur dari *Pseudomonas fluorescens* Migula telah dikenal sebagai bakteri pengkolonisasi daerah perakaran yang menandai potensinya untuk mengkoloni daerah rhizosfer dan rhizoplan (Chakravarty, dan Khalita, 2012). Senyawa-senyawa yang dihasilkan oleh Pseudomonad berfluoresen dapat bersifat antagonis terhadap beberapa jenis bakteri patogen. Habazar dan Rivai (2004) mengemukakan bahwa *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas putida* memiliki peran yang penting sebagai agens hayati dalam rhizosfer, karena bakteri ini tersebar luas dan sangat aktif dalam memproduksi siderofor. Senyawa siderofor ini dapat larut dalam air, cepat terdifusi dan dikenal sebagai *pyoverdin* atau *pseudobactin*. Aplikasi galur *Pseudomonas* yang berfluoresen secara alami pada akar tanaman misalnya kentang dan gula bit dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui penekanan mikroorganisme patogen tanah.

Beberapa penemuan isolat Pseudomonad berfluoresen telah dilakukan salah satunya oleh Advinda (2009) yang menemukan beberapa isolat Pseudomonad berfluoresen berasal dari rhizosfer yaitu, PfPj1, PfPj2, PfPj3, PfPb1, PfPb2, PfPb3, dan PfPm1 yang dapat menekan perkembangan penyakit BDB pada bibit pisang barangan. Isolat Pseudomonad berfluoresen yang terbaik berasal dari rhizosfer pisang jantan (PfPj2 dan PfPj3) diikuti dengan isolat dari

pisang kepok (PfPb1 dan PfPb3) dan pisang manis (PfPm1). Isolat *Pseudomonad* berfluoresen yang berasal dari rhizosfer pisang jantan lebih baik dalam meningkatkan ketahanan bibit pisang barangan terhadap BDB melalui enzim fenilalanin amonia liase (FAL) dan peroksidase (PO). Yetti (2011) menjelaskan salah satu isolat yang berasal dari rhizosfer pisang jantan yaitu PfPj1 memiliki kemampuan adaptasi pada daerah perakaran pisang lebih tinggi, mampu tumbuh dan berkembang dengan baik dibandingkan isolat lainnya. Advinda, dkk (2010) menyebutkan bahwa bibit pisang yang diintroduksi dengan isolat PfPj1 menghasilkan fitoaleksin pada daerah perakaran, sehingga tanaman tumbuh lebih sehat.

Kemampuan *Pseudomonad* berfluoresen di dalam laboratorium cenderung tidak stabil dan menurun kemampuannya dalam mengendalikan patogen tanaman. Untuk membantu mempertahankan kemampuannya dan memperpanjang umur bakteri *Pseudomonad* berfluoresen, biasanya disimpan dalam formula bahan pembawa tertentu yang sesuai dengan nutrisi yang dibutuhkan. Tujuan utama dari penyimpanan atau preservasi, yaitu: 1). Mereduksi, atau mengurangi laju metabolisme dari mikroorganisme dan tetap mempertahankan viabilitas (daya hidupnya), 2). Memelihara sebaik mungkin biakan, sehingga diperoleh angka *recovery* dan *survival* yang tinggi dengan perubahan ciri-ciri yang minimum (Machmud, 2001).

Suatu koleksi mikroba harus memberikan jaminan bahwa koleksi tersedia dalam keadaan murni, viabilitas baik dan perubahan karakter seminimal mungkin apabila suatu saat diperlukan (Chotiah, 2008). Sifat-sifat bahan pembawa yang

harus dipenuhi dalam formulasi mikroba, yaitu : mampu meningkatkan umur simpan, tidak bersifat toksik bagi tanaman, dapat larut baik dalam air dan membebaskan bakteri, dapat mentolerir keadaan lingkungan yang kurang baik, hemat biaya dan efektif dalam mengendalikan penyakit tanaman, dan harus kompatibel dengan bahan kimia lainnya (Nakeeran, 2005). Agar dapat menjadi bahan pembawa yang baik, kita harus mampu membuat formulasi pembawa yang tepat bagi mikroba agar viabilitasnya tetap terjaga. Setiap jenis bahan pembawa memiliki sifat yang berbeda-beda, baik sifat fisik, kimia, maupun biologi. Bahan pembawa ada yang bersifat organik, dan anorganik dalam bentuk padat maupun cair.

Dalam penelitiannya, Advinda (2009) melakukan formulasi terhadap *Pseudomonad* berfluoresen menggunakan bahan pembawa tepung tapioka, air kelapa, molase, agar-agar dan Na-alginat. Hasilnya menunjukkan tapioka merupakan bahan pembawa terbaik untuk formulasi *Pseudomonad* berfluoresen yang mampu mempertahankan viabilitas bakteri tertinggi dan mampu disimpan selama 8 minggu, tetapi introduksi formula *Pseudomonad* berfluoresen ini pada bibit pisang belum mampu menginduksi ketahanan bibit pisang kultivar barangan terhadap BDB. Hasil penelitian Susanti (2013) menunjukkan bahwa *Pseudomonad* berfluoresen formula tapioka memiliki viabilitas yang baik sampai masa penyimpanan 8 minggu dengan penambahan laktosa sebagai senyawa penstabil. Özaktan dan Bora (2004) menunjukkan bahwa formulasi talkum dan bakteri *Pantoea agglomerans* galur *Eh 24* mampu mengurangi pertumbuhan patogen tanaman.

Penyimpanan mikroba menggunakan tanah steril kering mampu menyimpan mikroba hingga 20 tahun atau lebih. Beberapa jenis bakteri seperti, *Streptomyces* sp., *Bacillus* sp., *Clostridium* sp., dan *Rhizobium* sp. dapat disimpan dengan teknik ini. Kelebihan teknik ini selain biayanya murah, juga cukup baik menjaga stabilitas karakter genetik isolat yang disimpan (Badjoeri, 2010). Talkum merupakan tanah mineral anorganik yang sangat lunak, karena mengandung tanah liat yang cukup tinggi. Talkum memiliki sifat halus, licin, dan pengisap minyak yang tinggi, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembawa *Pseudomonad* berfluoresen. Dahlia (2013) menjelaskan bahwa penambahan gliserol 0,05 mL berpengaruh terhadap viabilitas *Pseudomonad* berfluoresen mampu hidup hingga masa penyimpanan selama 56 hari dalam formula talkum dan memperlihatkan hasil cenderung stabil pada masa inkubasi 28 hari.

Bahan organik yang dapat dipakai sebagai bahan pembawa yaitu tepung tapioka yang merupakan saripati singkong (*Manihot utilissima*). Tepung tapioka mengandung karbohidrat, lemak, protein dan beberapa jenis vitamin dan mineral. Beberapa penelitian yang menggunakan tepung tapioka sebagai bahan pembawa pada formulasi *Pseudomonad* berfluoresen mampu mempertahankan viabilitas bakteri. Penelitian Susanti (2013) menunjukkan viabilitas *Pseudomonad* berfluoresen yang diformulasi dengan tepung tapioka yang ditambah laktosa 0,03 mL sebagai penstabil mampu mempertahankan viabilitas bakteri selama enam minggu, meski mengalami penurunan pada minggu kedelapan. Selain tepung tapioka, tanah juga dapat digunakan sebagai bahan pembawa formulasi *Pseudomonad* berfluoresen karena tanah merupakan habitat utama dari

mikroorganisme ini, dan di dalam tanah banyak terdapat unsur-unsur yang dapat mempertahankan hidup *Pseudomonad* berfluoresen. Menurut Chrisnawati (2011) formula yang sesuai bagi mikroba akan memberikan habitat yang dapat melindungi mikroorganisme dan lebih toleran terhadap fluktuasi suhu, kelembaban serta pestisida kimia sehingga potensi hidup dan kolonisasinya meningkat secara baik.

Sampai saat ini baru beberapa bahan pembawa yang diketahui dapat mempertahankan viabilitas, oleh karena itu peneliti menggunakan bahan pembawa lainnya yang dapat berfungsi sama dengan penambahan gliserol dalam mengendalikan BDB secara *In vitro* pada penelitian tentang “**Potensi *Pseudomonad* berfluoresen Dalam Berbagai Bahan Pembawa Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB) Secara *In vitro*”.**

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diungkapkan sebelumnya, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana potensi *Pseudomonad* berfluoresen yang diformula dalam berbagai bahan pembawa yang ditambah gliserol dalam mengendalikan BDB secara *In vitro*?

C. Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah, penulis mencoba membatasi beberapa aspek seperti dari berbagai jenis isolat *Pseudomonad* berfluoresen dan bahan pembawa. Penulis menggunakan isolat *Pseudomonad* berfluoresen PfPj1, PfPj2, PfPj3, serta bahan pembawa yang digunakan adalah tanah, talkum, dan tapioka.

D. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah Pseudomonad berfluoresen yang diformula dalam berbagai bahan pembawa dengan penambahan gliserol berpotensi mengendalikan BDB secara *In vitro*.

E. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi Pseudomonad berfluoresen yang diformula dalam berbagai bahan pembawa dengan penambahan gliserol dalam mengendalikan BDB secara *In vitro*.

F. Kontribusi Penelitian

1. Penelitian ini dapat diharapkan dapat menambah wawasan ilmu mengenai viabilitas dan potensi Pseudomonad berfluoresen dalam mengendalikan BDB secara *In vitro*.
2. Menambah khazanah ilmu di bidang mikrobiologi.
3. Sebagai informasi awal untuk penelitian selanjutnya.