POTENSI PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT CAS3 PADA BEBERAPA FORMULA DENGAN PENAMBAHAN STABILIZER GLISEROL DALAM MENGENDALIKAN *BLOOD DISEASE BACTERIA* (BDB) SECARA *INVITRO*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Persyaratan Guna Memperoleh Gelar Sarjana Sains

OLEH:

YOSSI RAHMADENI
18394/2010

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

2014

PERSETUJUAN SKRIPSI

POTENSI PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT CAS3 PADA BEBERAPA FORMULA DENGAN PENAMBAHAN STABILIZER GLISEROL DALAM MENGENDALIKAN *BLOOD DISEASE BACTERIA* (BDB) SECARA *INVITRO*

Nama	:	Yossi Rahmadeni
NIM	:	18394/2010
Program Studi	:	Biologi
Jurusan	:	Biologi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 20 Januari 2014

Disetujui Oleh:

Pembimbing I	Pembimbing II
Dr. Linda Advinda, M.Kes.	Drs. Mades Fifendy, M. Biomed.
NIP. 19610926 198903 2 003	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 Fluoresen Isolat Cas3 pada Beberapa Formula dengan Penambahan Stabilizer Gliserol dalam Mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *Invitro***
Nama	:	Yossi Rahmadeni
NIM	:	18394/2010
Program Studi	:	Biologi
Jurusan	:	Biologi
Fakultas	:	Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Padang, 27 Januari 2014

Tim Penguji

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

ABSTRAK

Yossi Rahmadeni : Potensi Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas3 pada Beberapa Formula dengan Penambahan Stabilizer Gliserol dalam Mengendalikan *Blood Disease bacteria* (BDB) Secara *Invitro*

Gejala tanaman pisang yang terserang *Blood Disease Bacteria* (BDB) adalah keluarnya lendir (ooze) berwarna kemerahan seperti darah ketika batang atau bonggol pisang dipotong, kemudian menguningnya daun pada tanaman pisang yang masih muda. Penyakit BDB dapat dikendalikan dengan agens hayati salah satunya pseudomonad fluoresen. Mikroba (bakteri) sangat mudah mengalami perubahan sifat menjadi strain baru yang berbeda dengan aslinya. Oleh karena itu perlu dilakukan preservasi (penyimpanan) untuk pemeliharaan plasma nutfah mikroba tersebut. Dalam menjaga kestabilan mikroba selama preservasi perlu ditambahkan gliserol. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui potensi pseudomonad fluoresen pada beberapa formula dengan penambahan stabilizer gliserol dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* secara *invitro*.

Penelitian dilaksanakan dari bulan Mei sampai bulan Juli 2013, bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan, FMIPA UNP. Parameter yang diamati adalah besarnya diameter zona hambat pseudomonad fluoresen Cas3 dalam mengendalikan BDB secara *invitro*. Pengamatan preservasi dilakukan setiap 10 hari sampai masa preservasi 60 hari. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 9 perlakuan dan 3 ulangan. Perlakuan yang diberikan adalah formula pseudomonad fluoresen Cas3 pada tapioka (penambahan gliserol 0,03 mL, 0,04 mL dan 0,05 mL); formula pseudomonad fluoresen Cas3 pada tepung beras (penambahan gliserol 0,03 mL, 0,04 mL dan 0,05 mL); formula pseudomonad fluoresen Cas3 pada talkum (penambahan gliserol 0,03 mL, 0,04 mL dan 0,05 mL). Data diameter zona hambat dianalisis menggunakan ANOVA pada taraf nyata 5% dan dilanjutkan dengan uji DNMRT pada taraf nyata 5%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa besar zona hambat yang terbentuk disekitar *Blood Disease Bacteria* bervariasi. Hasil analisis sidik ragam pada masa preservasi 10 hari berbeda nyata pada uji lanjut DNMRT, dengan zona hambat terbesar yaitu pada perlakuan F (6,41 mm) dan terendah pada perlakuan I (1,15mm), sedangkan pada masa preservasi 20 sampai 60 hari tidak berbeda nyata. Semua jenis formula pseudomonad fluoresen Cas3 berpotensi dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* secara *invitro*.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi tentang "Potensi Pseudomonad fluoresen isolat Cas3 pada beberapa formula dengan penambahan stabilizer gliserol dalam mengendalikan *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. Bapak Dr. Azwir Anhar, M.Si., Ibu Irdawati, S.Si., M.Si., dan Ibu Dezi Handayani, S.Si., M.Si., tim dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran selama penelitian dan penulisan skripsi ini.
3. Ibu Dr. Yuni Ahda, M.Si., Penasehat Akademik yang telah memberikan arahan dan bimbingan selama kuliah kepada penulis.
4. Ketua Jurusan, Sekretaris Jurusan, 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, 20 Januari 2014

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK i

KATA PENGANTAR ii

DAFTAR ISI iv

DAFTAR GAMBAR vi

DAFTAR TABEL vii

DAFTAR LAMPIRAN viii

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 5
C. Batasan Masalah 5
D. Hipotesis Penelitian 5
E. Tujuan Penelitian 6
F. Manfaat Penelitian 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Pseudomonad fluoresen 7
B. *Blood Disease Bacteria* 9
C. Gliserol 11
D. Bahan Pembawa 13

BAB III METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian 15
B. Waktu dan Tempat Penelitian 15
C. Rancangan Penelitian 15
D. Alat dan Bahan 16

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..... 24

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan 30
B. Saran..... 30

DAFTAR PUSTAKA..... 31

LAMPIRAN..... 35

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1. Rumus struktur gliserol 12
2. Zona hambat Pf Cas3 terhadap BDB 22
3. Rerata zona hambat PfCas3 terhadap BDB..... 24

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

1. Rerata zona hambat pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* 23
2. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 10 hari (mm) 35
3. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 10 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 35
4. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 20 hari (mm) 40
5. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 20 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 40
6. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 30 hari (mm) 44
7. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 30 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 44
8. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 40 hari (mm) 48
9. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 40 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 48
10. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 50 hari (mm) 52
11. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 50 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 52
12. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 60 hari (mm) 56
13. Zona hambat bakteri pseudomonad fluoresen Cas3 terhadap *Blood Disease Bacteria* pada masa preservasi 60 hari ($\sqrt{x + 0{,}5}$) 56

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Analisis statistik diameter zona hambat Pseudomonad fluoresen Cas3 dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *Invitro* 35
2. Skala Mc. Farland's 60
3. Dokumentasi Penelitian 61
4. Zona hambat pseudomonad fluoresen Cas3 dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* secara *invitro* 64

BAB I
PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Mikroba pada tumbuhan dapat menimbulkan kerusakan dengan tipe gejala serta tingkat kerusakan yang berbeda. Gejala yang ditimbulkan tergantung pada jenis tanaman, jenis mikroba yang menyerang, serta faktor lingkungan pada saat terjadinya penyakit. Gejala yang ditimbulkan tersebut meliputi bercak daun, layu, kanker, dan busuk (Arwiyanto, 2009).

Penyakit darah yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman pisang. Istilah penyakit darah diambil berdasarkan penampakan gejala tanaman sakit yang apabila batang atau bonggol pisang dipotong, maka akan keluar lendir (*ooze*) berwarna kemerahan seperti darah. Pada tanaman pisang yang masih muda ditandai dengan layu total dan tidak didahului oleh penguningan daun (Asrul, 2008). Pada buah pisang yang terserang *Blood Disease Bacteria*, menyebabkan daging buah berisi cairan kental yang berwarna merah kecoklatan (Supeno, 2003 dalam Asrul, 2008).

Penyakit layu fusarium dan layu bakteri oleh *Blood Dise*ase *Bacteria* yang menyerang tanaman pisang di kecamatan Pamukan Barat, Sampanahan serta Sungai Durian di Kotabaru, Kalimantan Selatan, telah menyebabkan lebih dari 2.025 hektare (Ha) tanaman pisang gagal panen. Untuk mencegah penyebaran penyakit ini petugas pertanian menghimbau para petani setempat untuk membongkar dan membakar pohon-pohon pisang yang terserang penyakit tersebut (Badan Perencanaan Pembangunan Daerah, 2013).

Pengendalian BDB yang selama ini digunakan adalah mengadakan pergiliran tanaman yang tepat, drainase yang baik, menanam benih yang sehat, pemupukan, penggarapan tanah, sterilisasi tanah pembibitan, penggunaan bahan kimia, bakterisida dan pestisida nabati (Asrul, 2008). Penggunaan pestisida kimia untuk mengendalikan patogen tanaman secara terus menerus dapat mengakibatkan masalah lingkungan. Pratiwi (2008) menyatakan bahwa pestisida kimia sulit didegradasi secara alami sehingga dapat menimbulkan masalah pencemaran lingkungan, oleh karena itu, perlu dilakukan pengendalian secara hayati.

Menurut Chatri (2006), pengendalian secara hayati adalah pengendalian patogen atau hama penyebab penyakit pada tanaman dengan menggunakan organisme hidup. Pengendalian hayati patogen dengan agens antagonis merupakan salah satu alternatif yang efektif dalam menekan patogen di lapangan melalui perlindungan dan induksi ketahanan tanaman (Huda, 2010). Pemanfaatan agens hayati pseudomonad fluoresen merupakan salah satu alternatif untuk pengendalian penyakit layu bakteri yang ramah lingkungan (Hanafiah, dkk. 2007).

Bakteri *Pseudomonas fluoresen* adalah salah satu kelompok pseudomonad fluoresen yang dapat menekan beberapa penyakit tanaman. Seperti halnya pestisida, bakteri *Pseudomonas fluoresen* juga memiliki stabilitas tertentu terhadap pengaruh lingkungan (Purba, 1999). Hasil penelitian Armaleni (2013) menunjukkan bahwa pseudomonad fluoresen Cas3 termasuk isolat terbaik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Ralstonia Solanacearum* secara *invitro*. Djatmiko (2007), menyatakan bahwa kemampuan antagonis dalam menekan patogen secara *invitro* disebabkan karena pada kondisi laboratorium, antagonis

hanya berhadapan dengan patogen dan ada dalam lingkungan kaya nutrisi, sehingga mampu memunculkan kemampuannya dalam menghambat patogen. Menurut Machmud (2001), mikroba sangat mudah mengalami perubahan sifat menjadi strain baru yang berbeda dengan aslinya. Oleh karena itu perlu dilakukan koleksi, preservasi (penyimpanan) dan pemeliharaan plasma nutfah mikroba tersebut.

Preservasi mikroba yang efektif dan sederhana dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai bahan pembawa yang bersifat organik maupun anorganik. Menurut Nakkeeran *et al*., (2005), karakter bahan pembawa yang ideal untuk pseudomonad fluoresen adalah: 1) dapat meningkatkan umur simpan, 2) tidak bersifat fitotoksik bagi tanaman, 3) dapat larut dalam air dan membebaskan bakteri, 4) toleran terhadap kondisi lingkungan yang kurang baik, 5) hemat biaya dan efektif untuk pengendalian penyakit tanaman, dan 6) harus kompatibel dengan senyawa agrokimia lainnya. Chotiah (2008) menyatakan bahwa metode preservasi yang digunakan harus meminimalkan kehilangan viabilitas selama proses preservasi, sehingga setelah preservasi, kultur akan hidup untuk waktu yang lama. Chrisnawati (2011), menyatakan bahwa formula yang sesuai 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.

Formulasi dengan bahan yang sesuai diharapkan dapat mendukung kelangsungan hidup bakteri untuk jangka waktu cukup panjang. Media tapioka memiliki kandungan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri diantaranya kalori, air,

protein dan lemak (Suprapti, 2005). Media ini juga dapat dimanfaatkan sebagai formula untuk preservasi pseudomonad fluoresen yang praktis, mudah, murah, dan tahan lama (Susanti, 2013). Bahan organik lainnya, seperti tepung beras juga dapat digunakan sebagai media preservasi bagi mikroorganisme. Kandungan pati yang tinggi pada tepung beras dapat memberikan sumber karbon atau nutrisi yang cukup pada bakteri (Sulistiani, 2009).

Talkum juga dapat digunakan sebagai formula dalam preservasi mikroba. Talkum termasuk senyawa anorganik yang memiliki kemampuan untuk menyerap minyak dan lemak (Dixon, 1999). Agar mudah disimpan dan diaplikasikan, pseudomonad fluoresen harus diformula dalam bahan pembawa tertentu untuk menjaga viabilitasnya. Agar preservasi tetap stabil, perlu ditambahkan gliserol sebagai senyawa penstabil. Gliserol adalah suatu trihidoksi alkohol yang terdiri dari tiga atom karbon. Toha (2001) menyatakan bahwa gliserol memiliki sifat sebagai pelembab dan emulsifier yang baik. Satu molekul gliserol dapat mengikat satu, dua atau tiga molekul asam lemak.

Advinda (2009) telah melakukan preservasi bakteri pseudomonad fluoresen isolat PfPj1 dengan menggunakan formula tapioka. Formula tapioka mampu memperpanjang umur simpan bakteri ini hingga 6 minggu dengan jumlah bakteri tertinggi yaitu 1,4. 10^{13} CFU/mL, namun viabilitas dari bakteri tersebut menurun dan tidak stabil. Susanti (2013), melaporkan bahwa bakteri pseudomonad fluoresen mampu bertahan hidup sampai masa preservasi delapan minggu pada formula tapioka. Namun, jumlah dan viabilitas pada masa preservasi dua minggu lebih tinggi dibandingkan dengan masa preservasi yang lainnya.

Dahlia (2013), menyatakan bahwa pada penambahan gliserol 0,05 mL, viabilitas bakteri pseudomonad fluoresen cenderung stabil pada masa inkubasi 28 hari dengan menggunakan formula talkum, sedangkan In'am (2013), mengemukakan bahwa penambahan gliserol 0,04 mL sebagai bahan penstabil mampu mempertahankan viabilitas pseudomonad fluoresen sampai masa preservasi 56 hari dengan formula alginat. Namun, belum ada informasi mengenai preservasi pseudomonad fluoresen Cas3 pada formula tapioka, tepung beras dan talkum dengan penambahan gliserol dalam dosis yang berbeda pada masa preservasi 60 hari, sehingga penulis melakukan penelitian mengenai **"Potensi Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas3 pada Beberapa Formula dengan Penambahan Stabilizer Gliserol dalam Mengendalikan *Blood Disease bacteria* (BDB) Secara *Invitro".***

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalahnya adalah: Bagaimana potensi jenis formula pseudomonad fluoresen Cas3 dengan penambahan stabilizer gliserol dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *in vitro*?

C. Batasan Masalah

Penelitian ini dibatasi pada jenis formula (tapioka, tepung beras dan talkum) dan dosis gliserol (0,03 mL, 0,04 mL dan 0,05 mL) dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *invitro* pada masa preservasi 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 hari.

D. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah bahwa jenis formula pseudomonad fluoresen Cas3 dengan penambahan stabilizer gliserol berpotensi dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *invitro*.

E. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi jenis formula pseudomonad fluoresen Cas3 dengan penambahan stabilizer gliserol dalam mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *invitro*.

F. Manfaat penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai berikut.

1. Menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam bidang Mikrobiologi.
2. Pertimbangan bagi pihak-pihak yang terlibat dalam bidang mikrobiologi dalam mengoptimalkan teknik preservasi dan pemeliharaan mikroba serta penggunaannya dalam mengendalikan mikroorganisme lain secara *invitro*.
3. Sebagai informasi awal untuk penelitian selanjutnya.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

A. Bakteri Pseudomonad fluoresen

Bakteri Pseudomonad fluoresen adalah kelompok bakteria yang dapat diisolasi dari daerah perakaran tanaman. Bakteri Pseudomonad fluoresen merupakan salah satu kelompok mikroorganisme yang mengkolonisasi daerah perakaran yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai agens hayati dalam mengendalikan penyakit tanaman (Cook and Baker, 1983).

Genus *Pseudomonas* termasuk dalam famili Pseudomonadaceae. Pseudomonadaceae dan genus lain bersama organisme tertentu dikenal sebagai Pseudomonad. Istilah Pseudomonad ditujukan pada bakteri yang memiliki perlengkapan fisiologik yang sama dengan bakteri genus *Pseudomonas*. Beberapa dari bakteri-bakteri ini pada awalnya termasuk dalam genus *Pseudomonas* tetapi kemudian dipindahkan ke genus atau famili lain karena jauhnya jarak filogenetik mereka dari genus *Pseudomonas* (Chotiah, 2008).

Wuryandari (2004) menyatakan bahwa pemanfaatan *Pseudomonas putida* strain Pf-20, bakteri antagonis yang diisolasi dari rizosfer *Mimosa invisa* di Medan, menunjukkan kemampuan menekan penyakit layu bakteri paling tinggi. Namun, usaha yang masih menggunakan metode pencelupan ini mengalami kesulitan dan tidak praktis dalam skala lapangan.

Karakteristik genus *Pseudomonas* yaitu sel berbentuk batang, gram-negatif, bergerak dengan satu flagela atau lebih, aerob walaupun beberapa spesies ditemukan fakultatif anaerob (contoh: *Pseudomonas aerugenosa*), tidak

membentuk spora dan katalase positif. Karakteristik lain yang cenderung pada spesies tertentu misalnya menghasilkan pigmen pioverdin (fluoresen), piosianin, piorubin dan piomelanin. Piosianin, piorubin dan piomelanin tidak berfluoresensi dan larut dalam air. Beberapa spesies tertentu menghasilkan pigmen yang larut dalam air, ditemukan secara luas di tanah, air, tumbuhan dan hewan (Chotiah, 2008).

Habazar dan Yaherwandi (2006), menyatakan bahwa aktivitas *Pseudomonas* yang berfluoresensi dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, bakteri ini memproduksi siderofor dalam rizosfir, siderofor diproduksi pada kondisi lingkungan tumbuh yang miskin Fe. Senyawa ini akan mengikat Fe sehingga tidak tersedia bagi mikroorganisme lain, seperti *Pyoverdin* yang dihasilkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* dapat menarik Fe dari patogen sehingga tanaman tumbuh baik. Bakteri Pseudomonad fluoresen juga bersifat antimikroba karena dapat menghambat pertumbuhan beberapa jamur patogen secara invitro seperti *Rhizoctonia solani, Scleronia sclerotium, Phymatotrichum, Phytophthora megasperma, Phytium aphanidermatum* dan *Fusarium oxysporum* sp. *cubense*

Arwiyanto dan Hartana (2001) melakukan penelitian terhadap tanaman tembakau yang mengalami penyakit layu bakteri yang disebabkan oleh *R. solanacearum*. Salah satu usaha pengendalian yang dilakukan adalah rotasi tanaman tembakau dengan tanaman tebu. Dengan harapan agar siklus hidup bakteri terputus karena lahan tidak ditanami dengan tanaman inang. Pada tahun 1997 diketahui bahwa risosfer tebu ternyata memelihara populasi *Ralstonia solanacearum* pada aras tertentu. Dengan demikian rotasi dengan tebu tidak dapat

memutus siklus hidup bakteri patogen. Penanaman *Mimosa invisa* setelah tebu dilakukan dengan maksud agar kesuburan lahan dapat ditingkatkan sehingga tembakau yang ditanam kemudian akan memberikan hasil yang menggembirakan. Penelitian menunjukkan bahwa dari risosfer tanaman tersebut (*Mimosa invisa*) berhasil diperoleh bakteri *Pseudomonas putida* yang dapat menekan pertumbuhan patogen di laboratorium dan dapat menekan perkembangan penyakit layu di rumah kaca dan di lapangan. Pengendalian secara terpadu terhadap penyakit ini dilakukan dengan penggunaan *Pseudomonas putida* pada saat pindah tanam (pencelupan akar semai), pengolahan tanah yang baik, penggunaan bibit sehat yang ditanam di lahan yang sehat (karena hampir seluruh lahan potensial terinfeksi oleh *R. solanacearum*) (Arwiyanto, 2009).

B. *Blood Disease Bacteria* (BDB)

Blood disease bacteria dikenal dengan nama penyakit moko atau *bacterial wilt* dan di Indonesia disebut sebagai penyakit darah. Istilah penyakit darah diambil dari penampakan gejala tanaman sakit yang apabila batang atau bonggol pisang dipotong, maka akan keluar lendir (*ooze*) berwarna kemerahan seperti darah. Di Indonesia, penyakit ini mulai diketahui tahun 1920 di pulau Selayar (Sulawesi Selatan) yang menyebabkan kerugian yang sangat besar. Selanjutnya penyakit ini menyebar ke berbagai daerah pertanaman pisang di Indonesia. Penyakit ini juga dilaporkan menyerang areal pertanaman pisang di Malaysia, Filipina, India, dan Amerika Tengah.

Ciri yang dapat dilihat pada patogen *Blood disease bacteria* ini adalah bentuk koloninya bulat atau lonjong (berukuran 2–5 mm) setelah 4 hari pada suhu 28°C,

tidak fluidal, pinggiran koloninya jelas dan bening, dengan bagian tengahnya sedikit keruh. Ciri lainnya adalah koloninya cenderung lengket pada permukaan medium sehingga agak sulit kalau diambil dengan jarum ose. Sifat ini tidak dijumpai pada bakteri *Ralstonia solanacearum* dan *Pseudomonas syzygii*. Kemampuan dalam hal mengoksidasi atau menggunakan sumber karbon, terutama glukosa, sukrosa, galaktosa, gliserol, mannosa dan ribosa, menunjukkan perbedaan di antara isolat *Ralstonia solanacearum.*

Bakteri penyakit darah dapat menyerang berbagai jenis pisang baik yang langsung dikonsumsi seperti pisang Ambon, pisang Nangka, dan pisang Mas, ataupun pisang lain yang dikomersilkan seperti pisang Raja dan pisang Kepok. Bakteri patogen ini mampu menimbulkan gejala penyakit pada *Heliconia collinsiena, Heliconia revolata, Strelizia reginae, Canna indica, Solanum nigrum, dan Asclepias currasiva*, tetapi tidak mampu menimbulkan gejala pada beberapa tanaman yang merupakan inang utama bagi *Ralstonia solanacearum* (penyebab penyakit layu bakteri) seperti tomat, buncis, tembakau, cabai, kacang tanah, kentang dan terung.

Penyakit darah yang disebabkan oleh *Blood Disease Bacteria* (BDB) merupakan salah satu penyakit penting pada tanaman pisang. Penyakit darah ini menjadi kendala utama pada produksi pisang di beberapa daerah, antara lain Lampung, Jawa Timur, Jawa Barat, Lombok, Sumatera Selatan, Sumatera Barat dan Sulawesi Selatan. Gejala penyakit ini pada tanaman pisang yang masih muda adalah layu total dan tidak di dahului oleh penguningan daun. Pada buah pisang

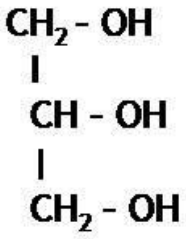
yang terserang, bagian yang seharusnya berisi daging buah menjadi berisi cairan kental yang berwarna merah kecoklatan (Supeno dalam Asrul, 2003).

Suatu gejala yang sama mungkin disebabkan oleh beberapa genus, demikian pula tiap genus bakteri terdiri atas beberapa spesies yang dapat menimbulkan gejala yang berlainan. Spesies dari bakteri dalam genus *Agrobacterium* (sekarang masuk ke dalam genus *Rhizobium*) hanya dapat menimbulkan proliferasi atau pertumbuhan luar biasa pada organ tanaman. Namun gejala proliferasi ini juga dapat disebabkan oleh *Rhodococcus* dan *Pseudomonas*. Genus *Pseudomonas* dan *Xanthomonas* dapat menimbulkan gejala yang mirip pada tanaman inang.

Di antara jumlah bakteri patogen tumbuhan tersebut di atas, ada beberapa spesies bakteri patogen tumbuhan yang perlu diperhatikan terutama di Indonesia. *Ralstonia solanacearum* merupakan spesies bakteri yang sangat berbahaya, karena bakteri ini mampu menyerang lebih dari 200 spesies tumbuhan yang sebagian besar merupakan tanaman budidaya, seperti tanaman dalam famili Solanaceae (terung, cabai, tomat, tembakau, kentang), pisang, kacang tanah, bijan, jahe, murbei, dan berbagai tanaman lainnya.

C. Gliserol

Putri dan Linda (2006) menyatakan bahwa gliserol termasuk pada golongan derivat lipid, yaitu senyawa yang dihasilkan oleh proses hidrolisis lipid. Gliserol ialah suatu trihidroksi alkohol yang terdiri atas tiga atom karbon. Jadi tiap atom karbon mempunyai gugus –OH. Satu molekul gliserol dapat mengikat satu, dua atau tiga molekul asam lemak dalam bentuk ester, yang disebut monogliserida, digliserida dan trigliserida.



Gambar 1. Rumus Struktur Gliserol (Warsiki dan Obie, 2007)

Gliserol adalah produk samping produksi biodiesel dari reaksi transesterifikasi dan merupakan senyawa alkohol dengan gugus hidroksil berjumlah tiga. Gliserol merupaka cairan yang tidak berwarna, tidak berbau dan merupakan cairan kental yang memiliki rasa manis. Gliserol dapat dimurnikan dengan proses destilasi agar dapat digunakan untuk pengolahan air (Prasetyo, 2012).

Dengan proses hidrolisis, lemak akan menjadi asam lemak dan gliserol. Proses ini dapat berjalan dengan menggunakan asam, basa atau enzim tertentu. Proses hidrolisis yang menggunakan basa menghasilkan gliserol yang menggunakan basa disebut proses penyabunan (Putri dan Linda, 2006). Di dalam tubuh, lemak disimpan di dalam hati. Kemudian diubah menjadi gliserol dan asam lemak, yang merupakan bentuk yang paling mudah digunakan dalam tubuh (Syaifuddin, 2006).

Menurut Aziz *dkk* (2012) gliserol dalam jumlah besar dapat digunakan dalam proses pembuatan obat, kosmetik, pasta gigi, busa uretan, resin sintesis dan lain-lain. Gliserol dapat diproduksi menjadi biosel dalam skala kecil dan dapat juga digunakan sebagai sabun tanpa harus diproses lebih lanjut (Yusmarlela, 2009).

Gliserol menyusun minyak dan lemak setelah berkombinasi dengan asam lemak seperti asam strearat, asam oleat, asam palmitat, dan asam laurat (Warsiki dan Obie, 2007). Gliserol merupakan hasil pemisahan asam lemak. Gliserol terutama digunakan dalam industri kosmetika antara lain sebagai bahan pengatur kekentalan sampo, obat kumur, pasta gigi, dan sebagainya.

D. Bahan Pembawa

1. Tapioka

Tapioka mengandung karbohidrat, berwarna putih, tidak mempunyai rasa manis dan tidak berbau. Tapioka diperoleh dari hasil ekstraksi umbi ketela pohon (*Manihot utilisima*). Kandungan pati pada tepung tapioka sekitar 85%. Amilosa pada tepung tapioka sekitar 30%. Selain itu tapioka juga mengadung kalori, protein, lemak dan air. Berdasarkan hasil penelitian Advinda (2009), dilaporkan bahwa bakteri Pseudomonad fluoresen isolat PfPj1 diformula menggunakan tapioka sebagai bahan pembawa. Tapioka ini merupakan bahan pembawa terbaik untuk formulasi Pf. Formula tapioka mampu memperpanjang umur simpan Pseudomonad fluoresen hingga 6 minggu dengan jumlah bakteri tertinggi yaitu 1,4. 10^{13} CFU/mL, namun viabilitas dari bakteri tesebut selama penyimpanan menurun.

2. Tepung beras

Beras termasuk senyawa organik yang merupakan makanan pokok bagi masyarakat Indonesia. Sebagian besar butir beras terdiri dari karbohidrat jenis pati. Pati beras terdiri dari dua fraksi utama yaitu amilosa dan amilopektin. Beras mengandung karbohidrat yang sangat tinggi yaitu sekitar 80%. Selain itu juga

mengandung lemak 4%, protein 6%, dan air 1%. Menurut Effendy (2010), Berdasarkan kandungan amilosanya, beras dibagi menjadi empat bagian yaitu beras ketan (1-2%), beras beramilosa rendah (9-20%), beras beramilosa sedang (20-25%) dan beras beramilosa tinggi (25-33%).

Tepung beras dapat diperoleh dari penggilingan atau penumbukan beras dari tanaman padi (*Oryza sativa* Linn). Penggunaan tepung beras sebagai media penyimpanan bagi mikroorganisme sudah pernah dilakukan, yaitu sebagai media penyimpanan bagi *Saccharomyces cerevisiae* dan *Rhizopus oligosporus*. Kandungan pati yang tinggi pada tepung beras dapat memberikan sumber karbon atau nutrisi yang cukup pada bakteri (Sulistiani, 2009).

3. Talkum

Talkum dengan rumus kimia $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ berwarna putih, putih kehijauan, abu-abu atau kecoklatan. Talkum mempunyai tingkat kekerasan 1, mudah dibentuk tetapi tidak elastis, perlapisannya mengkilat seperti berlemak, tidak larut dalam air dan tidak terbakar, mempunyai berat jenis 2,58-2,83 serta merupakan penghantar panas kurang baik. Talkum terbentuk dari hasil alterasi mineral magnesium silikat dalam batuan beku ultra basa.

Talkum termasuk senyawa anorganik yang memiliki kemampuan untuk menyerap minyak dan lemak (Dixon, 1999). Talkum merupakan mineral metamorf yang dihasilkan dari mineral magnesium seperti piroksen, amfibol, olivin, dan mineral serupa lainnya dengan adanya karbon dioksida dan air.

BAB V
PENUTUP

A. KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilaksanakan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pseudomonad fluoresen isolat Cas3 pada beberapa formula dengan penambahan stabilizer gliserol mampu mengendalikan *Blood Disease Bacteria* (BDB) secara *invitro*.
2. Perlakuan F merupakan perlakuan terbaik pada masa preservasi 10 hari karena memiliki zona hambat terbesar yaitu 6,41mm.

B. SARAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilaksanakan, penulis menyarankan untuk melakukan preservasi pseudomonad fluoresen Cas3 menggunakan formula yang berbeda dengan penambahan gliserol untuk melihat besar zona hambat yang terbentuk, dan bagi masyarakat untuk diaplikasikan sebagai agens hayati tanaman.

DAFTAR PUSTAKA

Advinda, L. 2009. Tanggap Fisiologis Tanaman Pisang yang Diintroduksi dengan Formula Pseudomonad fluoresen Terhadap *Blood Disease Bacteria* (BDB). *Disertasi*. Padang: Universitas Andalas.

Armaleni. 2013. Uji Antagonis Pseudomonad Fluoresen dengan *Ralstonia solanacearum* Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Tomat (*Licopersicom esculentum*) Secara *In Vitro*. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Arwiyanto, T. 2009. Bakteri Penyebab Penyakit Tumbuhan sebagai Lawan dan sebagai Kawan. *Pidato Pengukuhan Jabatan Guru Besar*. Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Asrul. 2008. Uji sensivitas koloni BDB (*Blood Disease Bacterium*) terhadap pemberian bahan kimia secara *in vitro*. *Jurnal Agroland*. No 15. Vol 3.

Aziz, I., Siti, N., dan Fira, L. 2012. Pemurnian gliserol dari hasil samping pembuatan biodiesel menggunakan bahan baku minyak goreng bekas. *Laporan Penelitian*. Fakultas Sains dan Teknologi. Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.

Badan Perencanaan Pembangunan Daerah. 2013. Jendela Informasi Online Perkembangan Pembangunan Daerah Kalimantan Selatan.

Chatri, M. 2006. *Buku Ajar Fitopatologi*. Padang: Universitas Negeri Padang.

Chotiah, S. 2008. Kelangsungan hidup plasma nutfah mikroba *Pseudomonas* spp. setelah penyimpanan jangka lama pada suhu kamar dan -15°C. *Seminar Nasional Teknologi Peternakan dan Veteriner 2008*. Bogor: Balai Besar Penelitian Veteriner.

Chrisnawati. 2011. Pengujian formula agensia hayati *Bacillus* sp. dan Pseudomonad fluoresen untuk mengendalikan penyakit layu bakteri nilam. *Jurnal embrio*. No. 2 Vol 4.

Cook, R. J., and K. F. Baker. 1983. *The Nature and Practice of Biological Control of Plant Pathogens*. St. Paul, Minnesota: APS.

Dahlia, Y. 2013. Pengaruh Penambahan Gliserol Terhadap Viabilitas Pseudomonad fluoresen yang Diformulasi Menggunakan Talkum. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Padang: Universitas Negeri Padang.

Dixon, S.J.B. 1999. *Kaolinit and serpentine group mineral*. USA: Insconsin.

Djatmiko, H. A., Triwidodo, A., Bambang, H., dan Bambang, H. S. 2007. Potensi tiga genus bakteri dari tiga rizosfer tanaman sebagai agensia pengendali hayati penyakit lincat. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia*. No 1. Vol 9.

Effendy, T.A. 2010. Uji toksisitas bioinsektisida jamur *Metarhizium* sp. berbahan pembawa bentuk tepung untuk mengendalikan *Nilaparvata lugens* (STAL) (Homoptera: Delphacidae). *Prosiding Seminar Nasional UNSRI, 20-21 Oktober 2010.* Palembang: Fakultas Pertanian Universitas Sriwijaya.

Habazar, T dan Yaherwandi. 2006. *Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Padang: Universitas Andalas Press.

Hadietomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.

Hadiwiyono. 2010. Insidens penyakit layu bakteri darah dan layu fusarium pisang di Sambung Macan Sragen dan Tawangmangu Karanganyar. *Jurnal Agrosains*. No 1. Vol 12.

Hanafiah, K.A., A. Napoleon., dan Nuni, G. 2007. *Biologi Tanah Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.

Huda, M. 2010. *Pengendalian Layu Fusarium pada Tanaman Pisang (Musa paradisiaca L.) Secara Kultur Teknis dan Hayati*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

In'am, K. 2013. Pengaruh Penambahan Gliserol Dalam Bahan Pembawa Alginat Terhadap Viabilitas Pseudomonad fluoresen. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Padang: Universitas Negeri Padang.

Machmud, M. 2001. Teknik Penyimpanan dan Pemeliharaan Mikroba. *Buletin Agrobio*. Bogor: Balai Penelitian Bioteknologi Tanaman Pangan.

Nakkeeran, S., W.G.D, Fernando., and Zaki, A. S. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, The Netherlands.

Nasrun, dkk. 2010. Perbanyakan dan pengujian efektivitas agensia hayati (*Pseudomonad Fluoresen*) untuk pengendalian penyakit layu bakteri Nilam. *Laporan Teknis Penelitian Tahun Anggaran 2010*. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik.

Nurwantoro dan A.S, Djarijah. 1997. *Mikrobiologi Pangan Hewan-Nabati*. Yogyakarta: Kanisius.

Özaktan, H., and Bora, T. 2004. Biological Control of Fire Blight in Pear Orchards With a Formulation of *Pantoea agglomerans* Strain Eh 24. *Braz. J. Microbiol.* São Paulo. No 3. Vol 35.

Parjono. 2008. Pseudomonas sp. sebagai pemacu pertumbuhan dan pengendali hayati fungsi patogen akar tanaman kedelai. *Disertasi*. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.

Pelczar, M.J dan E.C.S Chan. 2006. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 1*. Jakarta: Universitas Indonesia.

Prasetyo, A. 2012. Potensi gliserol dalam pembuatan turunan gliserol melalui proses esterifikasi. *Jurnal Ilmu Lingkungan*. Vol 10, issue 1.

Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga.

Purba, D.R. 1999. Pengaruh Beberapa Bahan Perekat Terhadap Kebugaran *Pseudomonas fluoresen* B-29 dan *Xanthomas campestris* pv. *Glycines* 1 FL pada Benih Kedelai (*Glycines max* (L.) Merril). *Skripsi*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: Bumi Aksara.

Putri, D. H dan Linda R. 2006. *Buku Ajar Biokimia*. Padang: Universitas Negeri Padang.

Sulistiani. 2009. Formulasi Spora *Bacillus subtilis* Sebagai Agens Hayati dan PGPR *(Plant Growth Promoting Rhizobacteria)* pada Berbagai Bahan Pembawa. Bogor: Departemen Proteksi Tanaman Fakultas Pertanian IPB.

Suprapti, M.L. 2005. *Tepung Tapioka*. Yogyakarta: Kanisius.

Supriadi, 1995. Karakteristik *Pseudomonas solanacearum*, *P. syzigii* dan bakteri penyebab penyakit darah *(Blood Disease Bacterium)* pada pisang. *Kongres Nasional XIII dan Seminar Ilmiah PFI*. Mataram 27–29 September.

Suriawiria, U. 1999. *Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Terbuka.

Susanti, R.R. 2013. Viabilitas *Pseudomonad fluoresen* Formula Tapioka dengan Penambahan Laktosa sebagai Senyawa Penstabil. *Skripsi*. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Padang: Universitas Negeri Padang.

Syaifuddin. 2006. *Anatomi dan Fisiologi untuk Mahasiswa Keperawatan*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Toha, A. 2001. *Biokimia Metabolisme Biomolekul*. Bandung: Penerbit Alfabeta.

Warsiki, E., Obie, F. 2007. Review pembuatan asam polilaktat (PLA) dari gliserol sebagai hasil samping industri biodiesel. *Konferensi Nasional 2007*: Pusat Penelitian Surfaktan dan Bioenergi, LPPM. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

Wuryandari, Y. 2004. Formulasi Pil-Benih Tembakau dengan *Pseudomonas Putida* Strain Pf-20 untuk Pengendalian Biologi Penyakit Layu Bakteri *(Ralstonia Solanacearum)*. *Disertasi*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Yusmarlela. 2009. Studi Pemanfaatan Plastisier Gliserol dalam Film Pati Ubi dengan Pengisi Serbuk Batang Ubi Kayu. *Thesis*. Jurusan Kimia. Pascasarjana. Medan: Universitas Sumatera Utara.