

**KEMAMPUAN PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT Cas
YANG DITUMBUHKAN DALAM BERBAGAI MEDIA
UNTUK MENGHASILKAN ANTIMIKROBA**



**ISY Aid AL WAGGAS
17032146/2017**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2021**

**KEMAMPUAN PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT *Cas*
YANG DITUMBUHKAN DALAM BERBAGAI MEDIA
UNTUK MENGHASILKAN ANTIMIKROBA**

SKRIPSI

Diajukan Sebagai Salah Satu Persyaratan Memperoleh Gelar Sarjana Sains



**Oleh:
ISYAID AL WAGGAS
NIM. 17032146/2017**

**PROGRAM STUDI BIOLOGI
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI PADANG
2021**

PERSETUJUAN SKRIPSI

KEMAMPUAN PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT Cas YANG DITUMBUHKAN DALAM BERBAGAI MEDIA UNTUK MENGHASILKAN ANTIMIKROBA

Nama : Isyaid Al Waggas
Nim/TM : 17032146/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

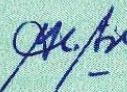
Padang, 03 Agustus 2021

Mengetahui:
Ketua Jurusan Biologi



Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed.
NIP. 19750815 200604 2 001

Disetujui Oleh:
Pembimbing



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

PENGESAHAN LULUS UJIAN SKRIPSI

Nama : Isyaid Al Waggas
NIM/TM : 17032146/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

KEMAMPUAN PSEUDOMONAD FLUORESEN ISOLAT *Cas* YANG DITUMBUHKAN DALAM BERBAGAI MEDIA UNTUK MENGHASILKAN ANTIMIKROBA

Dinyatakan lulus setelah dipertahankan di depan Tim Penguji Skripsi

Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Padang

Padang, 12 Agustus 2021

Tim Penguji
Nama

Tanda Tangan

1. Ketua : Dr. Linda Advinda, M. Kes
2. Anggota : Dr. Azwir Anhar, M.Si
3. Anggota : Dr. Irdawati, M.Si



SURAT PERNYATAAN TIDAK PLAGIAT

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Isyaid Al Waggas
NIM/TM : 17032146/2017
Program Studi : Biologi
Jurusan : Biologi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan ini menyatakan bahwa, skripsi saya dengan judul **“Kemampuan Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan dalam Berbagai Media untuk Menghasilkan Antimikroba”** adalah benar merupakan karya sendiri, bukan hasil 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 rasa tanggung jawab sebagai anggota masyarakat ilmiah.

 Diketahui oleh,
Ketua Jurusan Biologi


Dr. Dwi Hilda Putri, S.Si, M.Biomed.
NIP. 19750815 2006042 001

Padang, Agustus 2021

Saya yang menyatakan,



Isyaid Al Waggas
NIM. 17032146

Kemampuan *Pseudomonad* Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan dalam Berbagai Media untuk Menghasilkan Antimikroba

Isyaid Al Waggas

ABSTRAK

Pseudomonad fluoresen merupakan kelompok bakteri perakaran yang efektif menekan berbagai penyakit tanaman dan mampu menghasilkan senyawa antimikroba, yaitu HCN dan siderofor. Penelitian ini bertujuan untuk melihat kemampuan *pseudomonad* fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai media dalam menghasilkan HCN dan siderofor.

Percobaan ini dilakukan pada bulan Juni sampai Agustus 2020, bertempat di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan FMIPA UNP. Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dengan menggunakan *pseudomonad* fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam media tumbuh M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L); M2 (molase 10 g/L + ZA 10 g/L); M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L); M4 (molase 5 g/L + ZA 10 g/L) dan M5 (NB 8 g/L).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *pseudomonad* fluoresen isolat Cas mampu menghasilkan HCN. *Pseudomonad* fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada media tumbuh M2 (molase 10 g/L + ZA 10 g/L) mempunyai tingkat kemampuan yang tinggi dalam menghasilkan HCN dengan memperlihatkan kertas saring berwarna merah bata. Selain itu *pseudomonad* fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai media juga mampu menghasilkan siderofor. *Pseudomonad* fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada media tumbuh M5 (NB 8 g/L) memiliki kemampuan menghasilkan siderofor yang paling tinggi dengan nilai absorbansi 1,069 A.

Kata kunci: *Pseudomonad* fluoresen, HCN, Siderofor, Media tumbuh

The Ability of Pseudomonas Fluorescent Isolate Cas Grown in Various Media to Produce Antimicrobials

Isyaid Al Waggas

ABSTRACT

Fluorescent pseudomonads are a group of root bacteria that are effective in suppressing various plant diseases and are capable of producing antimicrobial compounds, namely HCN and siderophore. The aim of this study was to examine the ability of fluorescent pseudomonads isolated from Cas grown in various media to produce HCN and siderophores.

This experiment was carried out from June to August 2020, at the Plant Physiology Laboratory, FMIPA UNP. This research is a descriptive study using pseudomonad fluorescent Cas isolate grown in M1 growth medium (molasses 10 g/L + ZA 5 g/L); M2 (molasses 10 g/L + ZA 10 g/L); M3 (molasses 5 g/L + ZA 5 g/L); M4 (molasses 5 g/L + ZA 10 g/L) and M5 (NB 8 g/L).

The results showed that the fluorescent pseudomonad of Cas isolate was able to produce HCN. Pseudomonad fluorescent Cas isolate grown on M2 growth medium (10 g/L molasses + ZA 10 g/L) had a high level of ability to produce HCN by showing brick red filter paper. In addition, pseudomonad fluorescent isolates Cas grown in various media was also able to produce siderophores. Fluorescent pseudomonads isolated from Cas grown on M5 (NB 8 g/L) growth medium had the ability to produce the highest siderophore with an absorbance value of 1.069 A.

Keywords: Fluorescent pseudomonad, HCN, Siderophore, Growing media

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat melaksanakan penelitian dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Kemampuan *Pseudomonas* Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan dalam Berbagai Media untuk Menghasilkan Antimikroba”. Shalawat dan salam semoga senantiasa tercurahkan kepada Nabi Muhammad SAW.

Penulisan skripsi ini bertujuan untuk memenuhi salah satu persyaratan memperoleh gelar Sarjana Sains di jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang. Keberhasilan penulis dalam menyelesaikan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan dan dukungan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Linda Advinda, M.Kes. selaku Dosen Pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga dan pikiran untuk membimbing dalam melaksanakan penelitian dan mengarahkan penulis dalam menyelesaikan skripsi.
2. Ibu Dr. Dwi Hilda Putri., S.Si. M.Biomed. sebagai ketua program studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang dan selaku Dosen Pembimbing akademik yang telah memberikan nasehat dan bimbingannya selama masa perkuliahan.
3. Bapak Dr. Azwir Anhar, M.Si dan ibu Dr. Irdawati, M.Si. selaku Dosen Penguji yang telah memberikan saran dan kritikan untuk kesempurnaan penulisan skripsi ini.

4. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Padang yang telah membantu untuk kelancaran penulisan skripsi ini.
5. Orang tua dan keluarga yang senantiasa memberikan do'a dan dukungan.
6. Teman-teman mahasiswa Biologi 2017 dan pihak yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini.

Semoga segala bantuan, bimbingan, dukungan, dan petunjuk yang telah diberikan kepada penulis menjadi amal ibadah dan mendapat imbalan yang setimpal dari Allah SWT. Semoga skripsi yang penulis selesaikan dapat bermanfaat bagi kita semua dengan mengharap kritik dan saran yang membangun guna kesempurnaan skripsi ini.

Padang, Agustus 2021

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
A. Pseudomonad Fluoresen	6
B. HCN	7
C. Siderofor	9
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian.....	11
B. Waktu dan Tempat Penelitian.....	11
C. Alat dan Bahan.....	11
D. Rancangan Penelitian.....	11
E. Prosedur Penelitian	12
F. Teknik Analisis Data.....	16

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil	17
B. Pembahasan.....	20

BAB V PENUTUP

A. Kesimpulan	25
B. Saran	25

DAFTAR PUSTAKA	27
-----------------------------	-----------

LAMPIRAN.....	33
----------------------	-----------

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel	
1. Hasil uji kemampuan pseudomonad fluoresen dalam menghasilkan senyawa HCN	18
2. Nilai absorbansi pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan siderofor (OD 410 nm)	19

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar	
1. Perubahan warna pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan HCN	17
2. Peremajaan dan perbanyakkan pseudomonad fluoresen isolat Cas	33
3. Media Tumbuh M1, M2, M3, M4, M5	33
4. Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan HCN pada kertas saring	34
5. Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan siderofor menggunakan spektrofotometer	34

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Pseudomonad fluoresen adalah kelompok rizobakteri yang berperan sebagai agen hayati. *Pseudomonad fluoresen* dapat menghasilkan senyawa yang merupakan sinyal bagi tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder yang bersifat antimikroba (fitoaleksin), meningkatkan pertumbuhan tanaman, dan meningkatkan ketersediaan fosfat bagi tanaman (Advinda *et al.*, 2013). Deshwal dan Kumar (2013) menyatakan, beberapa spesies dari *pseudomonad fluoresen* dapat menghasilkan asam sianida (HCN), siderofor, IAA, asam salisilat, dan senyawa pelarut fosfat.

Senyawa antimikroba yang dihasilkan oleh *pseudomonad fluoresen* contohnya adalah asam sianida (HCN) dan Siderofor. Sianida merupakan anion yang terbentuk dari ikatan antara atom karbon (C) dan atom nitrogen. Sianida juga merupakan senyawa yang dapat melepaskan ion sianida CN yang sangat beracun dan cepat aktif dalam tubuh. Sianida dapat berbentuk gas, padat dan maupun cair. Umumnya sianida ditemukan dalam bentuk persenyawaan dengan unsur kimia organik maupun anorganik (Yuningsih, 2007). Contoh senyawa sianida yang beracun dan berbahaya adalah Hidrogen Sianida (HCN), Kalium Sianida (KCN), potasium sianida, dan sodium sianida (Shragg *et al.*, 2002).

Senyawa HCN yang dihasilkan oleh bakteri antagonis bersifat antimikroba. Hal ini didukung oleh pendapat Soesanto (2008; Salamiah dan Wahdah, 2015) *pseudomonad fluoresen* memiliki kemampuan dalam menghasilkan HCN yang

dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme patogen. Senyawa ini juga mempunyai peranan penting terhadap pengendalian hayati karena bersifat toksin terhadap patogen.

Disamping menghasilkan HCN, *Pseudomonas fluorescens* juga menghasilkan siderofor. Siderofor adalah senyawa yang berperan dalam pengendalian hayati penyakit tanaman yang memiliki afinitas besi yang sangat tinggi, larut dalam air dan juga cepat berdifusi. Selain dalam pengendalian hayati, siderofor pada rizosfir berfungsi untuk meningkatkan pertumbuhan dari tanaman dengan cara mengikat Fe yang terdapat dalam tanah sehingga tanaman akan tumbuh lebih baik (Habazar, 2006).

Siderofor yang dihasilkan oleh *Pseudomonas fluorescens* dipengaruhi oleh media tumbuh (Silva, 2006). Penelitian Marten *et al.*, (2018) menyatakan *Pseudomonas fluorescens* yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan sumber mineral Fe menghasilkan siderofor tertinggi yaitu sebesar 0,851, sedangkan yang terendah dengan penambahan sumber mineral Zn yaitu sebesar 0,385. Hal ini membuktikan bahwa sumber mineral Fe merupakan sumber mineral yang terbaik untuk produksi siderofor.

Pseudomonas fluorescens juga menghasilkan beberapa metabolit sekunder dengan aktivitas antimikroba terhadap bakteri dan jamur patogen. Selain itu, *Pseudomonas fluorescens* menghasilkan siderofor yang dapat menghambat aktivitas patogen dengan membatasi penggunaan zat besi yang tersedia di dalam tanah (Duijff *et al.*, 1993; Duffy and Defago, 1999).

Pseudomonas fluorescens mampu menghasilkan senyawa antimikroba seperti siderofor, pyoluteorin, fenazin karboksilat, pyoverdine yang bersifat menghambat

dan mematikan patogen. Kelompok bakteri ini dapat diisolasi dari daerah permukaan akar tanaman dan efektif dalam mengurangi penyakit tular tanah (Saravanan *et al.*, 2004).

Perbanyakan pseudomonad fluoresen biasanya menggunakan media yang dibuat oleh pabrik yaitu *Nutrient Broth* (NB). NB harganya relatif mahal, sehingga dicari alternatif media pengganti untuk perbanyakan bakteri. Menurut Jeyarajan dan Nakkeeran (2000) media perbanyakan (media tumbuh) bakteri harus memiliki karakteristik yang ideal diantaranya: tidak fitotoksik terhadap tanaman yang lain, harus larut dalam air dan harus melepaskan bakteri, harus mentolerir lingkungan yang merugikan, harus hemat biaya dan memberikan kontrol yang andal terhadap penyakit tanaman, serta kompatibel dengan agrokimia lainnya. Menurut Vidhyasekaran dan Muthamilan (1995) media tumbuh pseudomonad fluoresen dikembangkan melalui teknologi fermentasi cair.

Perbanyakan bakteri dapat menggunakan molase sebagai sumber karbohidrat. Hasil penelitian Suminto (2008) terlihat pemanfaatan molase 48 g/mL dapat meningkatkan jumlah bakteri *Flavobacterium* sp. Molase dapat digunakan sebagai bahan dasar media tumbuh, karena diduga sebagian besar molase adalah gula yang dapat dimanfaatkan sebagai energi untuk metabolisme sel bakteri. Semakin tinggi konsentrasi molase yang digunakan maka semakin baik media tersebut sebagai media tumbuh bakteri karena dapat memenuhi kebutuhan bakteri untuk terus bermetabolisme.

Molase merupakan produk akhir pembuatan gula yang masih mengandung sekitar 60% gula, asam amino dan juga mineral. Oleh karena itu molase sering digunakan sebagai sumber tambahan karbohidrat dalam media tumbuh

mikroorganisme (Sebayang, 2006). Molase dapat digunakan sebagai media tumbuh untuk perbanyakan *Pseudomonas fluorescens*, namun nutrisi yang disediakan molase juga terbatas untuk kehidupan *Pseudomonas fluorescens* (Advinda *et al.*, 2020).

Penambahan ZA (Zwavelzure Amoniak) dapat digunakan untuk media tumbuh bakteri. Pupuk ZA merupakan pupuk anorganik yang mengandung amonium sulfat dan memberi tambahan hara nitrogen dan belerang bagi tanaman (Arief *et al.*, 2016). Menurut Tim Bina Karya Tani (2008) ZA merupakan sumber nitrogen (N), fungsi dari nitrogen yaitu sebagai unsur hara utama bagi pertumbuhan tanaman yang sangat diperlukan untuk pembentukan atau pertumbuhan bagian-bagian vegetatif tanaman, seperti daun, batang, dan akar. Komponen utama dari nitrogen yaitu berbagai senyawa yang terdapat di dalam tubuh tanaman, seperti asam amino, amida, protein, klorofil, dan alkaloid.

Pemanfaatan molase 20 g/L (sebagai sumber karbon) dengan urea 2 g/L (sebagai sumber N) telah dilaporkan oleh Peighami *et al.*, (2008) untuk pertumbuhan *Pseudomonas fluorescens* P5. Hasil penelitian memperlihatkan penggunaan media tumbuh tersebut menghasilkan jumlah bakteri yang sama dengan menggunakan media tumbuh NB. Penelitian Advinda *et al.*, (2007) melaporkan beberapa isolat *Pseudomonas fluorescens* (diantaranya isolat PfPj2, PfCas, PfCas3, dan PfKd7), selain dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang, juga dapat meningkatkan ketahanan tanaman pisang terhadap patogen.

Pseudomonas fluorescens sangat berpotensi dalam mengatasi masalah penyakit tanaman. Hal ini dibuktikan dengan telah banyak penelitian yang melaporkan tentang keefektifan bakteri ini sebagai agen pengendali penyakit tanaman. Namun belum adanya informasi tentang potensi *Pseudomonas fluorescens*

isolat Cas dalam menghasilkan senyawa antimikroba (HCN dan Siderofor). Oleh karena itu, akan dilakukan penelitian dengan judul **“Kemampuan Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan dalam Berbagai Media untuk Menghasilkan Antimikroba”**

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian ini rumusan masalahnya adalah:

Apakah pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai media dapat menghasilkan HCN dan siderofor?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah melihat kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai media untuk menghasilkan HCN dan siderofor.

D. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai media tumbuh yang memiliki kemampuan menghasilkan HCN dan siderofor.
2. Informasi dalam bidang Fitopatologi.
3. Dapat menjadi sumber untuk penelitian selanjutnya.