

Potential Fluorescent Pseudomonad Cas Isolate that Grewed in Various Formulas to Produce IAA

Potensi Pseudomonad Fluoresen Isolat Cas yang Ditumbuhkan pada berbagai Formula untuk Menghasilkan IAA

Nola Nurdianata¹, Linda Advinda^{2*}

^{1,2*}Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Universitas Negeri Padang, West Sumatera, Indonesia

*Correspondence author: linda_advinda@yahoo.com

Abstract. The purpose of this research was to determine the potential of fluorescent pseudomonad with Cas isolates grown in various formulas to produce Indole Asetic Acid (IAA). This experiment was conducted from June to July 2020, at the Plant Physiology Laboratory of FMIPA, UNP. In this research, IAA detection was carried out by qualitative and quantitative analysis. The research was use descriptive method with fluorescent pseudomonad isolate Cas and treatment consisting of M1 (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 IAA. This can be seen in the pink color produced after addition of Salkowsky's reagent and incubation for 12 hours in a dark room. Then, the fluorescent pseudomonad of Cas isolate grown in the M1 formula had the highest IAA concentration of 37.295 ppm, while the lowest IAA concentration was in the fluorescent pseudomonad isolate Cas formula M3 with an IAA concentration of 2.897 ppm.

Key words: *fluorescent pseudomonad, formula, IAA, molasses, ZA*

Abstrak. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan Indole Asetic Acid (IAA). Percobaan ini dilakukan pada bulan Juni sampai Juli 2020, bertempat di Laboraturium Fisiologi Tumbuhan FMIPA UNP. Dalam penelitian ini dilakukan deteksi IAA dengan analisis secara kualitatif dan kuantitatif. Penelitian ini merupakan penelitian deskripif dengan menggunakan pseudomonad fluoresen isolat Cas dan perlakuan yang terdiri dari 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 IAA. Hal ini dapat dilihat dengan warna pink (merah muda) yang dihasilkan setelah penambahan reagen Salkowsky dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap. Kemudian, pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada pseudomonad fluoresen isolat Cas formula M3 dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

Kata kunci: Pseudomonad fluoresen, formula, IAA, molase, ZA



Pendahuluan

Pseudomonas fluorescens merupakan kelompok bakteri yang dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman, menghambat pertumbuhan patogen, menginduksi aktivitas enzim ketahanan, memproduksi siderofor (Habazar, 2001). *Pseudomonas fluorescens* berpotensi menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) (Rosenblueth dan Martiez, 2008), sehingga keberadaannya dapat meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman karena adanya hormon pertumbuhan yang dihasilkan (Irwansyah, 2018). Adanya hormon tumbuh yang dihasilkan *pseudomonas fluorescens* dapat mempercepat permeabilitas masuknya air ke dalam sel, sehingga perkecambahan biji menjadi lebih cepat (Un dan Farida, 2018).

Mikroba dapat ditumbuhkan pada medium tumbuh buatan dalam berbagai formula dengan campuran nutrisi yang seimbang. Bahan sintesis (bahan kimiawi) dan media yang kompleks (bahan kimia tidak diketahui) digunakan untuk kultur artifisial bakteri. Unsur yang biasa digunakan dalam media sintesis adalah K, Mg, Fe, Ca, Mn, Mo, Co, Zn, NH₄ dan glukosa (Singh, 2007). Perbanyak *pseudomonas fluorescens* biasanya menggunakan *Nutrient Broth* (NB) yang merupakan media tumbuh keluaran pabrik. Medium NB harganya cukup mahal sehingga dicari alternatif untuk mengganti medium NB tersebut. Menurut Advinda *et al.*, (2020) perbanyak *pseudomonas fluorescens* dapat menggunakan berbagai formula baik organik maupun anorganik.

Molase adalah salah satu formula organik yang dapat digunakan sebagai media tumbuh *pseudomonas fluorescens* yang merupakan produk akhir pembuatan gula yang tidak mengandung gula yang dapat dikristalisasi dengan cara konvensional, dan masih mengandung 50 - 60% gula, asam amino dan mineral (Sebayang, 2006). Kombinasi molase dan ekstrak ragi dapat digunakan sebagai formula media tumbuh untuk agen hayati. Jumlah bakteri *Pseudomonas fluorescens* P-6 dapat mencapai $3,7 \times 10^9$ cfu/mL bila ditumbuhkan pada formula media tumbuh yang mengandung molase dan ekstrak ragi (1:1 w/w). Sedangkan *Pseudomonas fluorescens* P-5 jumlah bakterinya $2,3 \times 10^9$ cfu/mL pada formula media tumbuh molase dan ekstrak ragi (1:1 w/w) (Ashnei *et al.*, 2008). Sedangkan salah satu formula dari bahan anorganik adalah *Amonium sulfat* (ZA) yang merupakan senyawa kimia dengan kandungan nitrogen (N) (Widiyaningrum dkk., 2017). Nitrogen dibutuhkan oleh mikroorganisme sebagai nutrisi dalam pertumbuhannya (Cappucino dan Sherman, 2013), sehingga penambahan ZA pada formula media tumbuh agen hayati juga dapat dilakukan. Advinda *et al.*, (2018) menyatakan *pseudomonas fluorescens* isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula medium Kings's B yang ditambahkan ZnSO₄·7H₂O mampu memproduksi HCN yang lebih tinggi dibandingkan pada formula yang ditambahkan CoCl₂·6H₂O.

Sampai saat ini belum ada informasi tentang formulasi *pseudomonas fluorescens* isolat Cas dengan menggunakan formula molase dan ZA. Oleh karena itu dilakukan penelitian tentang potensi *pseudomonas fluorescens* isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan IAA yang bertujuan untuk melihat potensi *pseudomonas fluorescens* isolat Cas yang ditumbuhkan pada berbagai formula media tumbuh dalam menghasilkan IAA.

Bahan dan Metode

Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA UNP dari bulan Juni- Juli 2020.

Metode.

Peremajaan dan perbanyak *pseudomonas fluorescens*

Pseudomonas fluorescens yang digunakan adalah isolat Cas. Isolat Cas diremajakan dalam cawan petri pada medium NA dengan metode gores. Diinkubasi selama 24 jam. Selanjutnya perbanyak inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium NB cair di dalam *Erlenmeyer* 100 mL, dan dishaker selama 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

Perbanyak inokulum dalam formula

Untuk membuat skala 1 Mc. Farland's (populasi 3×10^8 cfu/mL) dilakukan dengan cara mengambil suspensi pseudomonad fluoresen isolat Cas sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam 9 mL aquades steril, kemudian dibandingkan dengan skala 1 Mc. Farland's yang sudah ada. Mengambil masing-masing 1 mL suspensi, dan memasukkan ke dalam setiap formula yang telah dipersiapkan. Kemudian dishaker selama 2 x 24 jam dengan kecepatan 100 rpm.

Deteksi IAA

Deteksi kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan dalam berbagai formula untuk menghasilkan hormon IAA dilakukan dengan cara mengambil 1 mL suspensi (populasi 3×10^8 sel/mL, skala 1 Mc. Farland's) diinokulasikan pada 10 mL medium NB yang telah ditambahkan *tryptophan* 200 µg/mL, dan diinkubasi di atas shaker kecepatan 150 rpm selama 3x24 jam. Selanjutnya kultur disentrifus dengan kecepatan 13.000 ppm selama 30 menit, kemudian dipisahkan pelet dan supernatannya. 1 mL supernatan dimasukkan ke dalam 2 mL reagen *Salkowsky*, dan diinkubasi selama 12 jam di ruang yang gelap. Jika terlihat warna yang dihasilkan adalah merah muda menunjukkan positif adanya IAA, sedangkan warna kuning menunjukkan negatif (Khan dan Derty, 2009). Adanya IAA secara kuantitatif diamati menggunakan spektrofotometer (OD 530 nm). Konsentrasi IAA dari sampel dihitung berdasarkan kurva standar dengan IAA rumus regresi yang digunakan adalah :

$$y = ax + b$$

Keterangan:

y = Variabel dependen (absorban)

x = Variabel independen (konsentrasi)

a = Konstanta

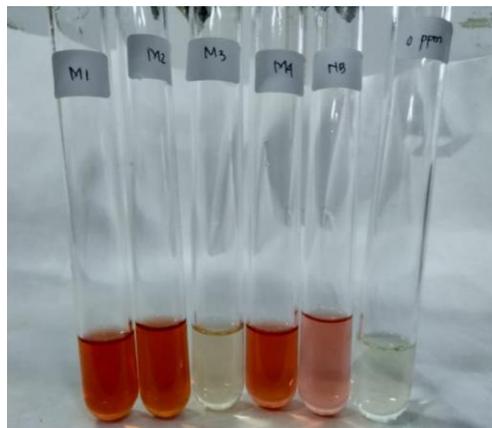
b = Koefisien regresi

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif. Pseudomonad fluoresen isolat Cas ditumbuhkan dalam berbagai formula media tumbuh, yaitu: 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).

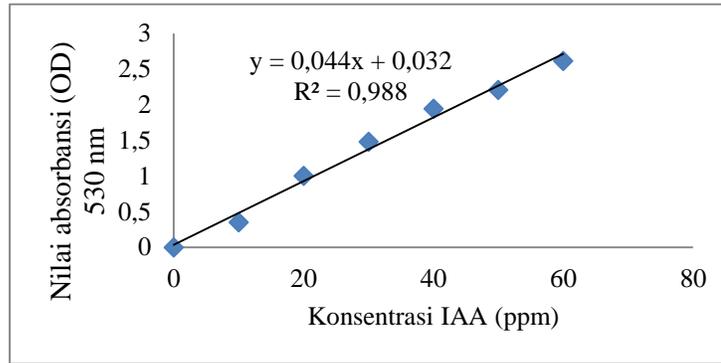
Hasil dan Pembahasan

Hasil penelitian yang telah dilakukan pada pseudomonad fluoresen isolat Cas, terlihat bahwa bakteri ini mampu menghasilkan IAA. Hal ini dapat dilihat dengan warna pink (merah muda) yang dihasilkan setelah penambahan reagen *Salkowsky* dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap (Gambar 1).



Gambar 1. Isolat pseudomonad fluoresen isolat Cas setelah diberi reagen *Salkowsky*

Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh bakteri pseudomonad fluoresen isolat Cas dapat dihitung secara kuantitatif dengan terlebih dahulu membuat kurva standar IAA (Gambar 2.). Pembuatan kurva standar bertujuan memperoleh suatu persamaan untuk perhitungan konsentrasi IAA dari supernatan. Kurva standar IAA diperoleh dengan mengukur nilai absorbansi larutan IAA standar berbagai konsentrasi yang telah diberi reagen *Salkowsky*. Pengukuran nilai absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan $\lambda = 530$ nm. Hasil pengukuran diolah menjadi grafik sehingga diperoleh persamaan regresi $y = 0,044x + 0,032$.



Gambar 2. Kurva standar IAA

Konsentrasi IAA dapat dihitung dengan menggunakan persamaan regresi yang telah ditentukan dengan mengganti peubah y pada persamaan kurva standar ($y = 0,044x + 0,032$) dengan hasil pengukuran absorbansi supernatan (Tabel 1). Sehingga didapatkan nilai x yang merupakan konsentrasi IAA supernatan. Berdasarkan jenis formula media tumbuh yang digunakan dalam menumbuhkan pseudomonad fluoresen isolat Cas, menunjukkan bahwa jenis formula berpengaruh terhadap kemampuan pseudomonad fluoresen isolat Cas dalam menghasilkan IAA.

Tabel 1. Konsentrasi IAA yang dihasilkan pseudomonad fluoresen isolat Cas

Formula	Nilai absorbansi ($\lambda : 530$ nm)	Konsentrasi IAA (ppm)
	1,673	37,295
M1	1,642	36,591
M2	0,1595	2,897
M3	1,084	23,909
M4	0,495	10,568
M5		

Uji produksi IAA secara kuantitatif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui data konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh pseudomonad fluoresen isolat Cas setelah ditumbuhkan dalam berbagai formula media tumbuh. Berdasarkan hasil produksi IAA oleh pseudomonad fluoresen isolat Cas, isolat yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki kemampuan memproduksi IAA yang paling tinggi dibandingkan dengan isolat yang ditumbuhkan pada formula lainnya. Pseudomonad fluoresen isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada pseudomonad fluoresen isolat Cas formula M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L) dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

Penemuan ini memberikan keuntungan untuk pertumbuhan tanaman dan pengembangan lebih lanjut mengenai formula yang bagus digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Menurut Advinda *et al.*, (2020) perbanyak pseudomonad fluoresen dapat menggunakan berbagai formula baik organik maupun anorganik. Jumlah bakteri pseudomonad fluoresen isolat Pfpj1 yang ditumbuhkan pada bahan organik molase mencapai $2,6 \times 10^8$ cfu/mL setelah 2 minggu masa inkubasi.

Kesimpulan

Pseudomonad fluoresen isolat Cas mampu menghasilkan IAA yang terlihat dengan adanya warna pink yang dihasilkan setelah penambahan reagen *Salkowsky* dan inkubasi selama 12 jam dalam ruang gelap. *Pseudomonad fluoresen* isolat Cas yang ditumbuhkan pada formula M1 (molase 10 g/L + ZA 5 g/L) memiliki konsentrasi IAA tertinggi yaitu 37,295 ppm, sedangkan konsentrasi IAA yang paling rendah adalah pada *pseudomonad fluoresen* isolat Cas formula M3 (molase 5 g/L + ZA 5 g/L) dengan konsentrasi IAA 2,897 ppm.

Ucapan Terimakasih

Terimakasih kepada reviewer yang telah memberikan masukan pada artikel ini.

Daftar Pustaka

- Advinda, L., Fifendy, M., Anhar, A. 2018. The Addition of Several Mineral Sources on Growing Media of Fluorescent *Pseudomonad* for the Biosynthesis of Hydrogen Cyanide. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 335 012016.
- Advinda, L., Fifendy, M., Irdawati, dan Anhar, A. 2020. The Utilization of Coconut Water and Molasses as Fluorescent *Pseudomonad* Propagation Medium. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies (IJPSAT)*, 19 (2): 25-28.
- Ashnaei, S.P., Tehrani, A.S., Ahmadzadeh, M., and Behboudi, K. 2008. Production of *Pseudomonad fluoresen* P-5 and P-6 for Bean Damping-off Disease. *Int. J. Agri. Biol.*, 10(5): 573-576.
- Cappucino, J. G., dan Sherman, N. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. 8th edn. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Habazar, T. 2001. Aspek Imunisasi dalam Pengendalian Penyakit Tanaman Secara Hayati. *Orasi Ilmiah Pada Rapat Senat Terbuka*. Padang: Fakultas Pertanian Universitas Andalas.
- Irwansyah. 2018. Pengaruh Bakteri *Pseudomonad fluoresen* dan *Paenibacillus polymixa* terhadap Intensitas Penyakit Hawar Upih serta Pertumbuhan Tanaman Jagung Hibrida P27. *Skripsi*. Lampung: Universitas Lampung.
- Rosenblueth, M., dan E. Martínez-Romero. 2008. The American Phytopathological Society. *MPMI*, 19(8): 827 –837.
- Sebayang, F. 2006. Pembuatan Etanol dari molase secara fermentasi Menggunakan Sel *Saccharomyces cerevisiae* yang Termobilisasi pada Kalsium Alginat. *Jurnal Teknologi Proses*, 5(2): 68 – 74.
- Singh, D.V. 2007. *Introductory Plant Pathology. Ex-Head and Emeritus Scientist: Division of Plant Pathology*. New Delhi: Indian Agricultural Research Institute.
- Un, V., dan Farida, S. 2018. Pengaruh Jenis Zat Pengatur Tumbuh terhadap Perkecambah Benih Cendana (*Santalum album* Linn.). *The Indonesian Green Technology Journal*, 7(1).
- Widyaningrum, P., Mustikamungtyas, D., dan Prayono, B. 2017. “Evaluasi Sifat Fisik Nata De Coco dengan Ekstrak Kecambah sebagai Sumber Nitrogen”, Prosiding Seminar Nasional Pendidikan Sains dan Teknologi FMIPA, Universitas Muhammadiyah Semarang, Semarang, Indonesia.