
**PENGARUH SUMBER MINERAL DAN JENIS ISOLAT DARI PSEUDOMONAD
FLUORESEN TERHADAP PRODUKSI SIDEROFOR**

**EFFECT OF MINERAL RESOURCES AND ISOLATE TYPES OF
PSEUDOMONAD FLUORESEN ON SIDEROFOR PRODUCTION**

Threo Wanda Marten¹, Linda Advinda², Azwir Anhar²

¹Mahasiswa Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang

²Staf Pengajar Jurusan Biologi, Universitas Negeri Padang

Jurusan Biologi, FMIPA Universitas Negeri Padang

e-mail: tmarten03@gmail.com

Abstract.

Pseudomonad fluorescent is a biological agent that can be isolated from the surface area of plant roots. Groups of bacteria can produce siderophores. Siderofor is a compound that has a very high iron affinity, dissolves in water and rapidly diffuses. The production of siderophores depends on the nutrients contained in the growing medium. This study aims to determine the best mineral resource for the production of siderophores from fluorescent pseudomonad isolates. This research is experimental research. Using a factorial completely randomized design (RALF) with two factors (type of isolate and mineral source) and 3 replications. Isolates used Pfpj1 and PfkD7 while mineral sources are Zn and Fe. Detection of siderophores was measured using a spectrophotometer at a wavelength of 410 nm. The data obtained were analyzed using ANOVA test and continued with DNMR advanced test with a real level of 0.05. The result of the research showed that the isolates obtained on the medium with the addition of minerals resulted in the production of siderofor yan not significantly different. Minerals added to the growth medium of both isolates resulted in different siderophores. The interaction between isolates and mineral sources has a significant effect on the production of siderophores of fluorescent pseudomonad.

Keywords: fluorescent pseudomonad, mineral source, siderofor

Abstrack.

Pseudomonad fluorezen merupakan agen hayati yang dapat diisolasi dari daerah permukaan akar tanaman. Kelompok bakteri dapat menghasilkan senyawa siderofor. Siderofor merupakan senyawa yang memiliki afinitas besi yang sangat tinggi, larut dalam air dan cepat berdifusi. Produksi siderofor tersebut tergantung pada nutrisi yang terdapat pada dalam media tumbuh. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan sumber mineral terbaik untuk produksi siderofor dari isolat pseudomonad fluorezen. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen. Menggunakan rancangan

acak lengkap faktorial (RALF) dengan dua faktor (jenis isolat dan sumber mineral) dan 3 kali ulangan. Isolat yang digunakan PfPj1 dan PfKd7 sedangkan sumber mineral yaitu Zn dan Fe. Deteksi siderofor diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANOVA dan dilanjutkan dengan uji lanjut DNMRT dengan taraf nyata 0,05. Hasil penelitian didapatkan kedua Isolat yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan mineral menghasilkan produksi siderofor yang tidak berbeda nyata. Mineral yang ditambahkan kedalam medium tumbuh kedua isolat menghasilkan kandungan siderofor yang berbeda. Interaksi antara isolat dengan sumber mineral memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi siderofor dari *pseudomonad fluoresen*.

Kata Kunci : pseudomonad fluoresen, sumber mineral, siderofor

1.PENDAHULUAN

Pseudomonad fluoresen merupakan agen hayati yang dapat diisolasi dari daerah permukaan akar tanaman (Ferfinia, 2010). Kemampuan *pseudomonad fluoresen* menekan populasi patogen diasosiasikan dengan kemampuannya melindungi akar dari infeksi patogen tanah. Advinda (2004) melaporkan *pseudomonad fluoresen* isolat PfPj1 mampu menghambat pertumbuhan *Blood Disease Bacteria* (BDB), dan juga dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman pisang. Selanjutnya Advinda dkk (2007) melaporkan isolat-isolat *pseudomonad fluoresen* yang berasal dari rizosfir pisang jantan (isolat PfPj1, PfPj2, dan PfPj3) mampu menekan serangan BDB pada bibit pisang Barangan. Hasil penelitian Netrina (2010) dilaporkan isolat *pseudomonad fluoresen* mampu menghasilkan antibiotik dan siderofor terhadap bakteri penyebab penyakit darah yang disebabkan oleh BDB.

Siderofor merupakan senyawa yang berperan dalam pengendalian hayati penyakit tumbuhan yang memiliki afinitas besi yang sangat tinggi, larut dalam air dan cepat berdifusi (Habazar, 2006). Produksi siderofor dari *pseudomonad fluoresen* ditentukan oleh komposisi medium tumbuhnya (Silva, 2006). Menurut Habazar (2006) siderofor pada rizosfir berfungsi meningkatkan pertumbuhan dari tanaman dengan cara menarik Fe pada patogen sehingga tanaman akan tumbuh lebih baik.

Untuk menumbuhkan bakteri atau mikroba pada saat penelitian, biasanya bakteri atau mikroba akan ditumbuhkan pada medium buatan (media tumbuh). Pada medium buatan tersebut, medium harus memiliki campuran nutrisi yang seimbang. Bahan sintetis (bahan kimiawi) dan media yang kompleks (bahan kimia tidak diketahui) digunakan untuk kultur artifisial bakteri. Unsur yang biasa digunakan dalam media sintetis adalah K, Mg, Fe, Ca, Mn, Mo,Co, Zn, NH₄ dan glukosa (untuk C) (Singh, 2007).

Hasil penelitian Sirohi (2015) melaporkan bahwa penambahan Zn menunjukkan penambahan biomassa pertumbuhan tanaman dan mempromosikan rhizobacterial strain *P. fluorescens* dalam biofertilisasi gandum.

Addy (2007) melaporkan Zn 0,5 mM meningkatkan kemampuan penghambatan pseudomonas pendarfluor terhadap *E.carotovora*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengaruh konsentrasi Fe dan Zn berbeda dengan amonium molibdate dan kobalt. Makin tinggi konsentrasi besi dan seng hingga 1,0 mM makin besar zona hambatan yang terbentuk. Sebaliknya, makin tinggi konsentrasi amonium molibdate dan kobalt makin rendah zona hambatan yang terbentuk (Addy , 2007).

1. METODE PENELITIAN

2.1 Pembuatan medium peremajaan dan perbanyak pseudomonad fluoresen

2.1.1 Pembuatan medium King's B padat

Medium King's B (Protease pepton, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, dan agar) ditimbang sebanyak 42,23 g ditambah gliserol 10 mL. Kemudian bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 mL.. Campuran dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.2 Pembuatan medium King's B cair

2.1.2.1 Medium King's B + $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 mM (perlakuan A)

Protease pepton ditimbang sebanyak 20 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1,5 g, Magnesium sulphate. $7H_2O$ 1,5 g, 10 mL $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 mM, dan agar 20 g. Kemudian bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 mL. Campuran dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.2.2 Medium King's B + $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 mM 0,5 mM (perlakuan B)

Protease pepton ditimbang sebanyak 20 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1,5 g, Magnesium sulphate. $7H_2O$ 1,5 g, 10 mL $Fe_2SO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5 mM, dan agar 20 g. Kemudian bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 mL. Campuran dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.1.2.3 Medium King's B (kontrol = perlakuan C)

Protease pepton ditimbang sebanyak 20 g, Dipotassium hydrogen phosphate 1,5 g, Magnesium sulphate. $7H_2O$ 1,5 g, dan agar 20 g. Kemudian bahan tersebut dimasukkan ke

dalam gelas *beaker*, dan ditambahkan akuades sampai volume 1.000 mL. Campuran dipanaskan sampai mendidih lalu dimasukkan ke dalam *Erlenmeyer* dan ditutup rapat dengan kapas dan aluminium foil. Sterilisasi medium menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.

2.2 Pembuatan medium uji kemampuan produksi siderofor

Medium produksi siderofor terdiri 20 g sukrosa, 2 g L-asparagin, 1 g K₂HPO₄, dan 0,5 g MgSO₄ yang dilarutkan ke dalam akuades hingga volume 1 Liter. Kemudian disterilkan dalam *autoclave* pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

2.3 Peremajaan dan perbanyakkan pseudomonad fluoresen

Setiap isolat pseudomonad fluoresen diremajakan dalam cawan petri pada medium King's B padat. Perbanyakkan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan murni dalam petri, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium King's B cair dan dishaker selama 24 jam pada suhu ruang.

2.4 Penanaman isolat pseudomonad fluoresen PfPj1 dan PfKd7

Isolat pseudomonad fluoresen PfPj1 dan PfKd7 ditumbuhkan pada setiap medium yang telah dipersiapkan dengan cara mengambil 1 mL suspensi pseudomonad fluoresen populasi 3x10⁸ sel/mL (skala 1 Mc. Farland's). Kemudian suspensi tersebut ditanamkan pada cawan petri yang telah berisi medium (sesuai perlakuan) dengan metode tuang, dan dihomogenkan dengan cara membentuk angka delapan. Biakan kultur bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 2x24 jam.

2.5 Produksi Siderofor

Untuk mengetahui produksi siderofor setiap isolat, terlebih dahulu dilakukan perbanyakkan inokulum. Perbanyakkan inokulum dilakukan dengan mengambil satu ose biakan dalam petri yang telah dipersiapkan, kemudian dibiakkan dalam 25 mL medium King's B cair dan dishaker selama 24 jam pada suhu ruang. Setelah 24 jam, diambil 1 mL suspensi, kemudian dipindahkan ke dalam 25 mL medium uji produksi siderofor dan diinkubasi selama 24 jam di atas shaker pada suhu ruang.

Suspensi yang dihasilkan diambil sebanyak 10 mL kemudian disentrifus dengan kecepatan 3.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil dengan menggunakan *micropipet*. Pendeteksian produksi siderofor oleh pseudomonad fluoresen dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL FeCl 0,01 M ke dalam 3 mL supernatan, sedangkan kontrol yang digunakan adalah supernatan tanpa penambahan FeCl. Deteksi siderofor diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm (Dirmawati, 2003 dalam Agustiansyah, dkk. 2013).

2. HASIL DAN DISKUSI

Isolat pseudomonad fluoresens Pfpj 1 dan PfkD 7 (koleksi Advinda) diremajakan dengan medium King's B padat. Kemudian diperbanyak dengan medium King's B cair. Dalam penelitian ini isolat Pfpj 1 dan PfkD 7 yang sudah diperbanyak ditumbuhkan pada medium perlakuan yang telah ditambah dengan beberapa sumber mineral (Zn dan Fe). Selanjutnya dilakukan uji produksi siderofor dari kedua isolat tersebut dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Hasil uji spektrofotometer didapatkan berupa angka *Optical Density* (OD). Produksi siderofor dari bakteri pseudomonad fluoresen dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Produksi siderofor isolat pseudomonad fluoresen Pfpj1 dan PfkD7 (OD pada panjang gelombang 410 nm)

ISOLAT	SUMBER MINERAL			Pengaruh Utama A
	Zn	Fe	Kont rol	
Pfpj1	0,683 bc	0,913 de	0,53 3 b	0,710 a
PfkD7	0,087 a	0,790 cd	1,02 6 e	
Pengaruh Utama B	0,385 a	0,851 b	0,78 0 b	

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama berarti berbeda tidak nyata

Hasil pengamatan kemampuan isolat pseudomonad fluoresen Pfpj1 dan PfkD7 dalam memproduksi siderofor yang ditumbuhkan pada medium dengan penambahan sumber mineral yang berbeda menghasilkan angka OD yang juga berbeda.

1. Pengaruh Utama Jenis Isolat

Isolat Pfpj 1 dan PfkD7 yang ditumbuhkan pada medium mineral Zn maupun Fe sama-sama membutuhkan kedua mineral tersebut. Dewantari (2016) menyatakan mikroba memerlukan bahan makanan atau nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Mikroba sama dengan makhluk hidup lainnya, memerlukan nutrisi sebagai sumber energi dan pertumbuhan selnya. Unsur-unsur dasar tersebut adalah: karbon, nitrogen, hidrogen, oksigen, sulfur, fosfor, zat besi dan sejumlah kecil logam lainnya. Ketiadaan atau kekurangan sumber nutrisi ini

dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba hingga pada akhirnya dapat menyebabkan kematian. Untuk keperluan hidupnya meliputi proses metabolisme dan penyediaan bahan sel serta energi, mikroba memerlukan bahan makanan atau nutrisi.

2. Pengaruh Utama (Sumber Mineral)

Uji lanjut pengaruh sumber mineral terhadap produksi siderofor pseudomonad fluoresen menunjukkan bahwa penambahan sumber mineral Fe menghasilkan produksi siderofor tertinggi yakni sebesar 0,851 dan yang terendah adalah sumber mineral Zn yaitu 0,385. Hasil uji lanjut menunjukkan bahwa sumber mineral terbaik untuk produksi siderofor dari isolat pseudomonad fluoresen adalah sumber mineral Fe. Addy (2007) melaporkan bahwa larutan stimulan berupa manitol 10% dan Zn 0,5 mM merupakan larutan stimulan terbaik untuk meningkatkan kemampuan penghambatan pseudomonas fluoresen terhadap bakteri seperti *E. carotovora* subsp. *carotovora*.

3. Pengaruh Interaksi (Jenis isolat dan sumber mineral)

Berdasarkan analisis data terlihat bahwa interaksi antara kedua faktor A (jenis isolat) dan faktor B (sumber mineral) menunjukkan bahwa hasil produksi siderofor tertinggi adalah pada perlakuan dengan isolat PFKd7 yang ditumbuhkan pada medium kontrol (medium tanpa penambahan Zn ataupun Fe), namun interaksi antara isolat PFPj1 yang ditumbuhkan pada medium yang ditambahkan Fe tidak berbeda nyata dengan kontrol, dengan kandungan siderofor 0,913.

Advinda *et al.*(2018) melaporkan penambahan Zn dan Fe ke media tumbuh, dapat meningkatkan kemampuan isolat PFPj1 dan PFKd7 menghasilkan senyawa anti mikroba asam sianida. Sehingga kedua isolat tersebut dapat digunakan sebagai agen biokontrol. Menurut Addy (2009), aktivitas bakteri pseudomonas pendar fluor dalam penghambatan penyebab penyakit patik di laboratorium adalah antibiosis melalui penghasilan antibiotik, gas volatil, produksi enzim protease dan juga siderofor. Keragaman unsur Fe dan kondisi suhu mempengaruhi kemampuan penekanan perkembangan penyakit patik secara *in vitro*.

Pseudomonad fluoresen menghasilkan pigmen pendarfluor yang bersifat antibiosis terhadap *R. lignosus*. Aktivitas antibiosis pigmen pendarfluor dipengaruhi oleh kadar Fe^{3+} , ini menunjukkan bahwa antibiosis isolat bakteri uji terkait dengan pengeluaran siderofor sebagai bahan kelat yang dapat mengikat unsur Fe^{3+} (Hasanuddin, 2011).

4. PENUTUP

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa isolat PFPj1 dan PFKd7 yang ditumbuhkan pada medium tumbuh dengan penambahan Zn dan Fe menghasilkan produksi siderofor yang tidak berbeda nyata. Mineral Zn dan Fe yang ditambahkan kedalam medium tumbuh isolat PFPj1 dan PFKd7 menghasilkan kandungan siderofor yang berbeda.

Interaksi antara isolat (Pfpj1 dan PfkD7) dengan sumber mineral (Zn dan Fe) memberikan pengaruh yang nyata terhadap produksi siderofor dari pseudomonad fluoresen.

Daftar Pustaka

- Addy, Hardian Susilo. 2007. Pengaruh Sumber Mineral Terhadap Penekanan *Erwinia Carotovora* Oleh *Pseudomonas Pendar-Fluor* Secara In Vitro. *J. Hpt Tropika*. ISSN:1411-7525 117 Vol. 7, No. 2: 117-124, September 2007.
- Addy, Hardian Susilo, 2009. Aktivitas *Pseudomonas Pendar Fluor* Dalam Mengendalikan Penyebab Penyakit Patik (*Cercospora nicotianae*) Pada Tembakau. *Jurnal Pengendalian Hayati* (2008) 1(2), 98-103.
- Advinda, L. 2004. Tanggap Pertumbuhan Tanaman Pisang yang Telah Diimunisasi dengan *Pseudomonas berfluoresensi Terhadap Ralstonia solanacearum*. *Disertasi* : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Andalas Padang.
- Advinda, L., Habazar, T., Syarif, A., Mansyurdin., Putra, D.P. 2007. Aktivitas Enzim Pertahanan Bibit Pisang yang Diinduksi dengan *Pseudomonad fluoresens*. *Jurnal Ilmiah Konservasi Hayati*. Vol. 03. No. 02. Oktober 2007.
- 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. Series: Material Science and Engineering* 335 (2018) 012016 doi:10.1088/1757-899X/335/1/01201.
- Agustiansyah., Ilyas S., Sudarsono., dan Machmud, M. 2013. Karakterisasi Rizobakteri yang berpotensi Mengendalikan Bakteri *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* dan Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Padi. *J. HPT Tropika*. ISSN 1411-7525. Vol. 13, No. 1: 42 – 51, Maret 2013.
- Dewantari, Nyoman R.A. 2016. Pengaruh Pemberian Mineral Terhadap Jumlah Bakteri *Escherichia coli* Dan Coliform Pada Sapi Bali Di Dataran Tinggi Dan Dataran Rendah. *Buletin Veteriner Udayana* Volume 8 No. 1: 71-78 p-ISSN: 2085-2495; e-ISSN: 2477-2712 Pebruari 2016.
- Ferfinia, Anggie. 2010. Eksplorasi Bakteri dan Cendawan Rizosfer Yang Berasosiasi Dengan Penyakit Busuk Basah Pada Batang Pepaya (*Carica papaya* L.) di Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor. *Skripsi* : Departemen Proteksi Tanaman . Institut Pertanian Bogor.
- Habazar, T. dan Yaherwandi. 2006. *Pengendalian Hayati Hama dan Penyakit Tumbuhan*. Padang : Andalas University Press.
- Netrina, N. H. 2010. Kemampuan Isolat *Pseudomonas Fluoresen* Dalam Menghasilkan Antibiotik dan Siderofor Terhadap Bakteri Penyebab Penyakit Darah (Blood Disease Bakteria). *Skripsi* : Jurusan Biologi FMIPA. Universitas Negeri Padang.

- Silva GA, Almeida EA. 2006. Production of yellow-green fluorescent pigment by *Pseudomonas fluorescens*. ISSN 49(3): 411-419.
- Singh, D.V. 2007. Introductory Plant Pathology. *Ex-Head and Emeritus Scientist* : Division of Plant Pathology, Indian Agricultural Research Institute New Delhi-110012.
- Sirohi, G., A. Upadhyay., P. Shankar Srivastava And S. Srivastava. 2015. Pgpr Mediated Zinc Biofertilization Of Soil And Its Impact On Growth And Productivity Of Wheat. *Journal Of Soil Science And Plant Nutrition*, 2015, 15 (1), 115-132.