

## PERTANIAN

# KAJIAN JENIS LIMBAH DAN LAMA PENYIMPANAN TERHADAP DAYA TAHAN *Pseudomonas diminuta*

*The Study of Types of Waste and Length of Storage Towards the Endurance of Pseudomonas diminuta*

**Annasa Fadil Prabowo<sup>1</sup>, Soekarto<sup>1\*</sup> dan Paniman Ashna Mihardjo<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Jember

Jalan Kalimantan 37, Kampus Tegal Boto, Jember 68121

\*E-mail : otkarus@gmail.com

### ABSTRACT

*Pseudomonas diminuta* is a biological agent that effectively controls potato cyst nematode/NSK (*Globodera rostochiensis*). Some studies suggest that *P. diminuta* be able to reduce the number of potato cyst nematode population up to 49% in vitro in the greenhouse which comes from the isolation in a potato plantation land. *P. diminuta* is a saprophyte a bacterium that can live and thrive on remnants of organic materials. *P. diminuta* is stored on the media made of liquid organic waste out of tofu waste water, molasses and coconut water for 9 weeks to determine the durability of the bacteria. This research was intended to identify the type of organic liquid waste media which was effective for culturing *P. diminuta* bacteria and to determine the effect of length of storage waste on viability and population of *P. diminuta* bacteria cultured. The use of organic liquid waste as medium for *P. diminuta* is because the medium is economical and accessible and can add good value-added. The research was conducted in various stages such as breeding *P. diminuta*, preparing for organic liquid waste as an alternative media for *P. diminuta*, storing *P. diminuta* on organic liquid waste media, Population Density Test, and Viability Test. Coconut water is the best medium for the growth of *P. diminuta*. The fairly stable and high growth during the 9 week storage either in viability and its population made this waste be the best media compared to *P. diminuta* cultured in medium of tofu waste water and molasses. It was molasses that provided the lowest growth.

**Keywords:** *Pseudomonas diminuta*, waste, Viability, population, Storage, Medium

### ABSTRAK

*Pseudomonas diminuta* adalah agen hayati yang efektif mengendalikan Nematoda Sista Kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*). Beberapa studi menunjukkan *P. diminuta* mampu menurunkan jumlah populasi Nematoda Sista Kentang sampai 49% secara in vitro di rumah kaca yang berasal dari isolasi di tanah perkebunan kentang. *P. diminuta* merupakan bakteri yang bersifat saprofit, yaitu dapat hidup dan berkembang pada sisa-sisa bahan organik. *P. diminuta* disimpan pada media limbah organik cair berupa limbah air tahu, tetes tebu dan air kelapa, selama 9 minggu untuk mengetahui daya tahan bakteri tersebut. Tujuan dari penelitian ini mengetahui jenis media limbah organik cair yang efektif untuk pembiakan bakteri *P. diminuta* serta mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas dan populasi bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan. Penggunaan media limbah organik cair untuk media *P. diminuta*, karena media ini ekonomis, dan mudah di dapat serta bisa menambah nilai tambah yang baik. Penelitian ini dilakukan dengan berbagai tahapan, seperti Pembiakan *P. diminuta*, Persiapan Limbah Organik Cair sebagai Media Alternatif untuk *P. diminuta*, Penyimpanan *P. diminuta* pada Media Limbah Organik Cair, Uji Kepadatan Populasi, dan Uji Viabilitas. Media air kelapa merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan *P. diminuta*. Pertumbuhan selama 9 minggu baik dari viabilitas dan populasinya yang stabil dan cukup tinggi, membuat limbah ini menjadi media yang terbaik dibandingkan *P. diminuta* yang dibiakkan pada media air tahu dan tetes tebu. Media terendah pertumbuhannya ada pada media tetes tebu.

**Kata Kunci:** *Pseudomonas diminuta*, Limbah, Viabilitas, Populasi, Penyimpanan, Media

**How to cite:** Annasa Fadil Prabowo, Soekarto, dan Paniman Ashna Mihardjo. 2015, Kajian Jenis Limbah Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta*. *Berkala Ilmiah Pertanian* 1(1): xx-xx

### PENDAHULUAN

*Pseudomonas diminuta* adalah agen hayati yang efektif mengendalikan Nematoda Sista Kentang/NSK (*Globodera rostochiensis*) sampai 49% secara in vitro di rumah kaca yang berasal dari isolasi di tanah perkebunan kentang (Asyiah dkk., 2009). *P. diminuta* merupakan bakteri yang bersifat saprofit, yaitu dapat hidup dan berkembang pada sisa-sisa bahan organik. *P. diminuta* disimpan pada media limbah organik cair selama 9 minggu untuk mengetahui daya tahan bakteri tersebut. Sehingga bakteri bisa dilihat perkembangannya, di media mana bakteri tersebut tumbuh dengan baik atau tidak. Untuk menguji viabilitas dan efektivitas *Pseudomonas diminuta* maka dilakukan suatu penyimpanan dengan beberapa jenis media yang berasal dari limbah organik cair. Lama penyimpanan berpengaruh terhadap pertumbuhan bakteri di setiap jenis media limbah yang digunakan.

Penggunaan media limbah organik cair tetes tebu, air kelapa dan air tahu untuk media *P. diminuta*, karena media ini ekonomis, dan mudah di dapat serta bisa menambah nilai tambah yang baik bagi limbah yang terbuang oleh berbagai industri di lingkungan sekitar.

Penggunaan media air kelapa juga digunakan untuk media alternatif untuk perbanyak bakteri *Bacillus thuringiensis* karena murah dan mudah didapatkan (fardedi et. al 2007). Limbah tetes tebu dengan air tahu juga digunakan untuk media pembiakan *P. fluorescens* (Kusumowardani, 2008). Penggunaan media limbah ini selain bisa dijadikan media alternatif pengganti media laboratorium Nutrient Broth tapi juga bisa menghemat biaya serta bisa membuat lingkungan tidak tercemar karena limbah bisa di gunakan untuk pembiakan bakteri.

Tujuan dari penelitian ini mengetahui jenis media limbah organik yang efektif untuk pembiakan bakteri *P. diminuta* serta mengetahui pengaruh lama penyimpanan terhadap viabilitas bakteri *P. diminuta* yang dibiakkan.

## BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Penyakit Tumbuhan, Jurusan Hama Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian, Universitas Jember pada bulan Mei sampai bulan September tahun 2014. Persiapan yang perlu dilakukan yaitu sebagai berikut:

**Pembiakan *P. diminuta*.** *P. diminuta* yang dibiakan yaitu dari kultur stok koleksi dari Dr. Iis Nur Asyiah, SP.,MP yang di dapatkan dari laboratorium Biologi Universitas Padjajaran. Sebanyak satu lup. *P. diminuta* diambil, dilakukan secara aseptik dari kultur stok dan digoreskan pada cawan petri steril yang berisi media Na padat dan diinkubasi pada suhu ruang.

**Persiapan Limbah Organik Cair sebagai Media Alternatif untuk *P. diminuta*.** Persiapan 4 media, dengan 3 media alternatif yang digunakan yaitu air tetes tebu, air kelapa, dan limbah air tahu, sedangkan media NB (Nutrient Broth) digunakan sebagai kontrol. Media Air kelapa yang sudah tua diambil airnya kemudian di saring dan 100% air kelapa digunakan untuk media. Media Air tahu hasil dari pembuatan tahu yang di saring dan dimodifikasi dengan komposisi akhir 2 % glukosa; 18 % aquades; dan 80 % limbah tahu. Media tetes tebu hasil dari pengolahan tebu di pabrik gula di ambil dengan konsentrasi 30 % dan dimodifikasi dengan penambahan 70 % aquades. Semua media di sterilisasi dengan autoklaf dengan pH 7.

**Aplikasi Jenis limbah dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *P. diminuta*.** Penelitian tentang "kajian Jenis Limbah Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan *Pseudomonas diminuta*" menggunakan rancangan percobaan faktorial dengan rancangan dasar Rancangan Acak Lengkap (RAL) Dimana terdapat 2 faktor. Faktor pertama yaitu jenis limbah dan yang kedua adalah lama penyimpanan.

Isolat *P. diminuta* yang ditumbuhkan pada media NA selama 24 jam diambil sebanyak satu lup dan dimasukkan ke dalam 20 ml media Nutrient Broth. Kemudian diinkubasi dengan menggunakan shaker selama 13 jam dengan kecepatan 100 rpm. Suspensi *P. diminuta* diinokulasikan ke dalam masing-masing media alternatif dan NB sebagai kontrol dengan perbandingan 1:100 ml. Media disimpan pada suhu ruang. Pada proses penyimpanan, media yang telah ditambahkan *P. diminuta* ditempatkan pada botol untuk penyimpanan selama sebelas minggu yang kemudian akan diuji daya tahannya pada minggu ke-1, 3, 5, 7, 9. Masing-masing botol berisi 25 ml/media dari media kontrol (Nutrient Broth), limbah tahu, tetes tebu dan air kelapa.

Variabel pengamatan yang digunakan dalam percobaan ini terdiri dari :

### a. Kepadatan Populasi.

Untuk uji kepadatan populasi atau daya tahan menggunakan metode pengenceran berseri. Caranya yaitu sebanyak 1 ml *P. diminuta* yang dibiakan pada media limbah organik cair diinokulasikan ke dalam 9 ml aquades steril lalu dicampur secara merata dengan menggunakan vorteks, maka didapatkan pengenceran  $10^{-1}$ . Dari pengenceran  $10^{-1}$  diambil 1 ml kemudian dimasukkan ke dalam 9 ml aquades steril dan dicampur kembali dengan menggunakan vorteks, dan seterusnya hingga pengenceran  $10^{-8}$ .

Plating hanya dilakukan pada pengenceran  $10^{-8}$  yaitu dengan cara menyebar 100 micro liter ( $100 \mu\text{l} = 10^{-1} \text{ ml}$ ) suspensi yang telah diencerkan ke dalam cawan dengan media Pikovskaya padat. Plating dilakukan dengan 3 kali ulangan setiap jenis media.

Pengamatan yaitu dengan menghitung jumlah koloni yang tumbuh setelah 24 jam menggunakan *colony counter*. Jumlah koloni yang tumbuh selanjutnya dikonversikan ke bentuk cfu/ml dengan rumus :

$$\sum \text{Populasi} = \frac{a}{b}$$

a = Jumlah koloni pada pengenceran ke-

b = Faktor pengenceran x volume suspensi yang disebar (ml)

### b. Viabilitas.

Jumlah total sel mikrobia dapat ditetapkan secara langsung dengan pengamatan mikroskopis pada pengenceran  $10^{-8}$ , dengan alat haemocytometer. Dengan perhitungan sebagai berikut:

$$S = \frac{t.d}{n.0,25} * 10^{-6}$$

S: Jumlah bakteri

t : Rata-rata jumlah bakteri dalam kotak kecil

d : Faktor pengenceran

n : Jumlah kotak kecil yang di amati

$10^{-6}$  : Standar haemocytometer

0,25 : Volume cairan dalam kotak kecil

Setelah di temukan hasil nya maka di lakukan penghitungan viabilitas sebagai berikut:

$$\sum \text{Viabilitas} = \frac{\text{Jumlah sel hidup}}{\text{Jumlah sel seluruhnya}} 100 \%$$

### Analisis Data

Data dari hasil pengamatan dilakukan dengan sidik ragam (anova), kemudian dilakukan uji polynomial ortogonal untuk mengetahui pertumbuhan bakteri terhadap semua jenis media selama 9 minggu.

## HASIL

Pada penelitian ini dilakukan analisis  $F_{\text{Hitung}}$  sebagaimana ditampilkan pada Tabel 1. sebagai berikut.

Tabel 1. Nilai F-Hitung dari variabel yang diamati

No	Variabel	Faktor A (Jenis Limbah)	Faktor B (Lama Penyimpanan)	Interaksi A x B
1	Populasi	0,06 <sup>ns</sup>	13,33 <sup>*</sup>	0,64 <sup>ns</sup>
2	Viabilitas	0,74 <sup>ns</sup>	10,58 <sup>*</sup>	0,69 <sup>ns</sup>

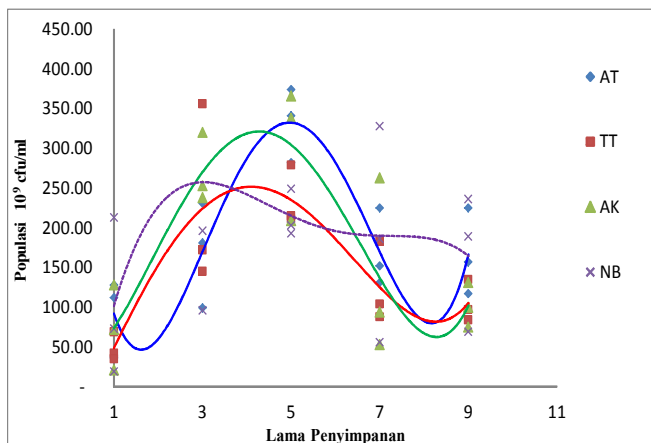
Keterangan : \*\* :berbeda sangat nyata

\* :berbeda nyata

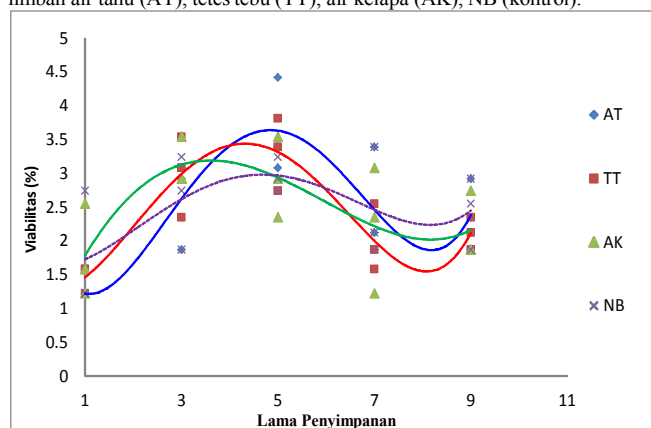
ns :berbeda tidak nyata

Berdasarkan rangkuman anova dari 2 variabel pengamatan pada Tabel 1, diketahui bahwa populasi dan viabilitas memiliki nilai F-hitung yang berbeda nyata dibandingkan nilai F-tabel 5%, pada faktor B (Lama Penyimpanan) sedangkan faktor A (Jenis Limbah) dan Interaksi faktor Ax B memiliki nilai F-hitung yang berbeda tidak nyata terhadap nilai F-tabel.

Pengaruh lama penyimpanan memiliki pengaruh nyata terhadap populasi dan viabilitas *P. diminuta*. Sehingga dilakukan uji lanjutan dengan menggunakan analisis polinomial orthogonal.



Grafik 1. Populasi ( $10^9$  cfu/ml) bakteri *P. diminuta* yang hidup dalam media limbah air tahu (AT), tetes tebu (TT), air kelapa (AK), NB (kontrol).



Grafik 2. Viabilitas (%) bakteri *P. diminuta* yang hidup dalam media limbah air tahu (AT), tetes tebu (TT), air kelapa (AK), NB (kontrol).

Pengaruh lama penyimpanan pada suhu ruang *P. diminuta* pada setiap media cair organik (Grafik 1 dan Grafik 2) menunjukkan hasil yang berbeda-beda. Untuk viabilitas rata-rata tertinggi bakteri ada pada media air kelapa dengan nilai 1,78% pada minggu ke-1, dan 3,13% pada minggu ke-3 kemudian nilai tertinggi ada pada media limbah air tahu pada minggu ke-5 dengan nilai 3,63% dan terendah ada pada media limbah Tetes tebu pada minggu ke-9 dengan 2,11%. Pada minggu ke-9 nilai tertinggi ada pada media kontrol NB dengan nilai 2,45%. Secara keseluruhan, *P. diminuta* yang dibiakkan pada media air tahu menunjukkan daya tahan yang paling tinggi di antara media lainnya. Tetapi perbedaan daya tahan di berbagai jenis limbah tersebut tidak terlalu signifikan.

Untuk populasi jumlah bakteri yang hidup pada minggu ke-1 jumlah tertinggi ada pada media kontrol NB dengan  $101 \times 10^9$  cfu/ml, dan terendah ada pada media limbah tetes tebu dengan  $48 \times 10^9$  cfu/ml. Pada minggu ke-3 tertinggi ada pada media air kelapa dengan  $270 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada air tahu dengan  $170 \times 10^9$  cfu/ml. Kemudian pada minggu ke-5 tertinggi ada pada media air tahu dengan  $332 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada media kontrol NB dengan  $215 \times 10^9$  cfu/ml tetapi pada minggu ke-7 media kontrol NB tertinggi dengan  $190 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah pada media tetes tebu dengan  $125 \times 10^9$  cfu/ml. Pada minggu ke-9 tertinggi ada pada media air tahu dengan  $166 \times 10^9$  cfu/ml dan terendah ada pada media air kelapa dengan  $102 \times 10^9$  cfu/ml. Secara keseluruhan yang terendah tetap ada pada media tetes tebu dan tertinggi ada pada air kelapa.

## PEMBAHASAN

Populasi dan viabilitas *P. diminuta* pada 9 minggu penyimpanan tidak mengalami penurunan yang sangat drastis, atau dengan kata lain bakteri agens hayati tersebut mampu bertahan hingga 9 minggu setelah

dibiakkan pada limbah cair organik baik pada suhu ruang. Hal ini memberikan keuntungan tersendiri dimana formulasi bakteri ini pada limbah organik cair dapat dilakukan untuk jangka waktu yang cukup lama. Dinamika populasi yang tinggi ada pada air kelapa. Data dinamika populasi *P. diminuta* yang dibiakkan pada berbagai media limbah cair serta dilakukan penyimpanan pada suhu ruang menunjukkan pertumbuhan populasi yang rendah.

Pertumbuhan *P. diminuta* pada media tetes tebu yang stabil tapi lebih rendah jumlah populasi dan viabilitasnya karena pada media ini ada karbohidrat sebesar 58%. Menurut Kusumawardani (2008), Adanya sumber karbon yang cukup banyak menyebabkan media tersebut tidak dapat langsung digunakan, yang berakibat tidak maksimalnya pertumbuhan *P. diminuta* pada media ini. Oleh karena itu puncak pertumbuhan *P. diminuta* pada media tetes tebu rendah sampai minggu ke-9. Komposisi kimia dari tetes tebu disebutkan oleh ESHA research (2010) yang menyebutkan bahwa 12 mg/ 100gr abu dalam tetes tebu terkandung mineral kalsium 11,75%; copper 14%; iron 13,28%; magnesium 7,34%; manganase 18%; fosfor 0,55%; potasium 9,37%; selenium 3,47% sodium 0,31% dan zinc 0,93%. Menurut Margantis and Pace (1985) Dalam Rusdan (2011) bahwa dalam 100gr tetes tebu terdapat kandungan protein 0,81%, karbohidrat 24,42% serta glukosa 27,14%. Pertumbuhan bakteri pada media ini untuk populasinya cenderung lebih rendah, walaupun tetap stabil. Tetapi untuk viabilitasnya pada minggu ke-5 mengalami kenaikan yang lebih tinggi. Tapi untuk minggu yang lain tetap lebih rendah dari pada air kelapa yang pertumbuhan bakterinya lebih tinggi namun tetap stabil.

Pertumbuhan *P. diminuta* pada media limbah air tahu menurut Hariyadi et al. (2002) karena adanya kadar abu 0,06%, protein 0,17%, total padatan 0,67%, pH 4,27, karbohidrat 0,35%, kadar air 99,28%, dan lemak 0,09%. Karbohidrat yang ada pada limbah air tahu berfungsi sebagai sumber karbon merupakan senyawa kompleks, oleh karena itu pada media limbah tahu ini tidak bisa langsung digunakan. Maka dari pada itu agar dapat langsung digunakan perlu penambahan glukosa sebagai sumber karbon. Sumber karbon dari penambahan glukosa tersebut membuat pertumbuhan bakteri pada limbah air tahu ini mengalami pertumbuhan yang drastis penurunan dan kenaikannya karena sumber karbon dari glukosa tersebut menjadi sederhana dan bisa langsung digunakan. Dari minggu ke-3 langsung naik pada minggu ke-5 dengan nilai yang tinggi. Tapi untuk minggu ke-7 langsung turun dengan drastis juga. Maka dengan pertumbuhan seperti ini walaupun nilai pertumbuhan yang lebih tinggi, maka bisa terjadi penurunan bakteri yang lebih banyak. Menurut Hamdiyanti (2010), Pada minggu ke-3 menuju ke-9 mengalami fase log atau pertumbuhan eksponensial, dimana fase ini mikroba membelah dengan cepat dan konstan mengikuti kurva logaritmik. Dan kemudian mengalami fase stationer pada minggu ke-5. Pada fase ini jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Berdasarkan Grafik 1 dan Grafik 2 pertumbuhan air tahu begitu drastis kenaikan dan penurunannya. Sehingga pertumbuhannya tidak stabil walaupun tinggi jumlahnya.

Menurut Hidayat, et al, (2010) air kelapa mengandung gula (1,7-2,6%) dan protein (0,14-0,2%). Secara khusus, air kelapa kaya akan kalsium, beberapa vitamin seperti vitamin C, riboflavin, asam folat, biotin, tiamin, asam nikonat, asam panthotenat sehingga selain bisa berpotensi digunakan sebagai bahan produk makanan dan minuman air kelapa bisa digunakan sebagai media tumbuh bakteri. Lengkapnya nutrisi yang ada pada media limbah ini, membuat hasil dari pertumbuhan bakteri lebih stabil.

Fase lag (fase adaptasi) bisa di lihat dari minggu ke-1, yang kemudian pada minggu ke-3 mengalami fase log (fase pertumbuhan cepat), kemudian pada minggu ke-5 mengalami fase stationer (fase statis) dan terus mengalami fase penurunan populasi (decline) pada minggu ke-7 dan minggu ke-9. Fase-fase tersebut mencerminkan keadaan bakteri dalam kultur pada waktu tertentu. Di antara setiap fase terdapat suatu periode peralihan dimana waktu dapat berlalu sebelum semua sel memasuki fase yang baru (Hamdiyanti, 2010). Pertumbuhan bakteri yang

stabil, baik dari populasi dan viabilitas nya menunjukkan bahwa media limbah air kelapa merupakan jenis limbah yang baik untuk pertumbuhan *P. diminuta* selama 9 minggu pertumbuhan.

#### KESIMPULAN

Media air kelapa merupakan media yang paling baik untuk pertumbuhan *P. diminuta*. Pertumbuhan selama 9 minggu baik dari viabilitas dan populasi nya yang stabil dan cukup tinggi, membuat limbah ini menjadi media yang terbaik dibandingkan *P. diminuta* yang dibiakkan pada media air tahu dan tetes tebu. Media terendah pertumbuhannya ada pada media tetes tebu dengan pertumbuhan yang relatif stabil.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini merupakan bagian dari Penelitian Hibah Bersaing dengan rumpun ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan yang didanai oleh Hibah Bersaing Tahun Anggaran 2014 Nomor : 373/UN25.3.1/LT.6/2014.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Asyiah, N.I, Soekarto, Husain, M, dan Wijaya. 2009. *Pemanfaatan Rizobakter dan Mikoriza Vesicular Arbuskular (MVA) dalam Pengendalian Nematoda Sista Kentang (Globodera rostochiensis)*. Laporan Penelitian KKP3T (dalam proses publikasi nasional).
- ESHA reaserch., 2010. *Blackstrap Molasses*. Food Records Containers, ESHA Foods Database, Salem, Oregon, USA.
- Fardedi, dan Putrina, Misfit. 2007. Pemanfaatan air kelapa dan air rendaman kedelai sebagai media perbanyakan bakteri *Bacillus thuringiensis barliner*. *J ilmu-ilmu pertanian Indonesia* 8(1):64-70. Universitas Bengkulu. Lembaga Penerbitan Fakultas Pertanian.
- Hariyadi P, Budijanto S, dan Permana AW. 2002. *Pemanfaatan limbah cair tahu untuk memproduksi ingredient pangan fungsional [LP]*. Bogor: Lembaga Penelitian, Institut Pertanian Bogor.
- Hamdiyanti, Yanti. 2010. *Pertumbuhan dan Pengendalian Mikroorganisme II. Pendidikan Biologi*. FPMIPA. UPI.
- Hidayat, T., D. Sumangat dan A. N. Alamsyah. 2010. *Produksi, Pangsa Pasar, dan Diversifikasi Produk Olahan Kelapa..*
- Kusumowardani, A. 2008. *Kajian Jenis Limbah, Suhu, Dan Lama Penyimpanan Terhadap Daya Tahan Dan Potensi Antagonisme Pseudomonas fluorences*. Skripsi, Jurusan Hama Dan Penyakit Tumbuhan Fakultas pertanian. Institut Pertanian Bogor.
- Rusdan, H.I. 2011. *Karakterisasi Parsial Enzim Renin Dari Mucor miehei Yang Ditumbuhkan Pada Media Bekatul dan Tetes Tebu Serta Aplikasinya Pada Pembuatan Keju Mozzarella (Kajian Konsentrasi Penambahan Tetes Tebu dan Lama Waktu Inkubasi)*. Skripsi. Malang: Jurusan Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Agrios GN. 1997. *Plant Pathology*. Ed ke-4. San Diego: Academic Press.