

---

**POTENSI AIR REBUSAN KEDELAI SEBAGAI MEDIA ALTERNATIF  
PERBANYAKAN BAKTERI *Pseudomonas fluorescens* SEBAGAI  
AGEN HAYATI**

Alfi Nurwahidah<sup>1\*</sup>, Trisnani Alif<sup>2</sup>

<sup>1,2</sup>Universitas Billfath

Corresponding Author: [alfinurwahidah0@gmail.com](mailto:alfinurwahidah0@gmail.com)\*

**Abstract**

*Pseudomonas fluorescens* is a bacterial antagonist that is widely used as a biological control agent. Propagation of *Pseudomonas fluorescens* is mostly done with synthetic agar media. This requires an expensive cost, therefore there is a need for alternative media for bacterial propagation. This study aims to examine the growth of *Pseudomonas fluorescens* in liquid media of soybean cooking water. The research was carried out at the Office of the TPH Protection Coordinator for the Bojonegoro Region. The research method used is descriptive quantitative method, carried out on the number of bacterial colonies. The results of this study indicate that soybean cooking water can be used as a medium for propagation of *Pseudomonas fluorescens* bacteria and has a high bacterial density with the number of bacterial colonies of  $6.5 \times 10^8$  CFU/ml in the first week.

**Keywords:** Biological agents, *Pseudomonas fluorescens* and soybean cooking water

**How to Cite:** Alfi Nurwahidah & Trisnani Alif. (2021). Potensi Air Kedelai Sebagai Media Alternatif Perbanyak Bakteri *Pseudomonas fluorescens* Sebagai Agen Hayati., 2 (1), pp.203-210.

---

## PENDAHULUAN

Pengendalian hama dan penyakit tanaman yang dilakukan oleh petani kebanyakan masih menggunakan pestisida sintetis. Tanpa disadari hal ini banyak menimbulkan masalah, antara lain: meningkatnya resistensi terhadap insektisida kimia, terjadinya ledakan populasi, meningkatnya risiko keracunan pada manusia dan hewan ternak, terkontaminasinya air tanah, menurunnya biodiversitas, dan bahaya-bahaya lain yang berkaitan dengan lingkungan.

Salah satu teknik pengendalian alternatif ramah lingkungan yang dapat digunakan untuk mengendalikan serangan patogen yaitu dengan pemanfaatan agen hayati. Pemanfaatan agen hayati untuk mengendalikan penyakit tumbuhan adalah upaya untuk mengurangi kemampuan bertahan suatu patogen, menghambat pertumbuhan dan penyebaran, mengurangi infeksi dan beratnya serangan patogen pada tanaman inang. Hal tersebut sebagai upaya untuk mengurangi penggunaan bahan kimia dan mengurangi biaya penanggulangan (Uruilal, 2012).

*Pseudomonas fluorescens* merupakan bakteri antagonis yang banyak dimanfaatkan sebagai agensia pengendali hayati baik untuk jamur maupun bakteri patogen tanaman. *Pseudomonas fluorescens* telah menunjukkan kemampuannya di dalam mengendalikan beberapa patogen tanaman, khususnya patogen tular-tanah, baik *in vitro*, *in planta*, maupun *in vivo*. *Pseudomonas fluorescens* mempunyai sifat “*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*” (PGPR) (Sulistyoningtyas et al., 2017).

*Pseudomonas fluorescens* dilaporkan mampu menekan pertumbuhan patogen jamur *Fusarium* sp. secara *in vitro* (Agustina et al., 2021). Hasil penelitian Diarta et al. (2016) menunjukkan bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* dapat menghambat pertumbuhan patogen *Fusarium oxysporum* dan memiliki tipe antibiosis bakterisidal yaitu sifat senyawa tersebut mampu membunuh bakteri pathogen sehingga bakteri patogen tidak dapat tumbuh dan berkembang lagi. Oleh sebab itu, *Pseudomonas fluorescens* menjadi agens antagonis yang potensial untuk dikembangkan secara massal.

Saat ini, perbanyakan *Pseudomonas fluorescens* banyak dilakukan dengan menggunakan media agar sintetik. Hal tersebut membutuhkan biaya yang banyak apabila media agar sintetik ini akan digunakan sebagai media perbanyakan massal. Oleh sebab itu, perlu dicari bahan-bahan yang berpotensi sebagai media perbanyakan massal *Pseudomonas fluorescens* yang cocok untuk tersedia melimpah, mudah didapatkan dan murah. Menurut D’souza (2013), media untuk perbanyakan bakteri secara umum harus mengandung sumber nitrogen, karbon, fosfat, sulfur, vitamin dan bahan yang mampu merangsang pertumbuhan bakteri.

Air rebusan kedelai merupakan limbah cair pada pembuatan tempe yang belum dimanfaatkan dan cenderung mencemari lingkungan jika tidak tertangani dengan baik, tetapi jika dimanfaatkan secara tepat maka akan menghilangkan sumber penyakit dan mengurangi pencemaran lingkungan. Air rebusan kedelai memiliki kandungan yang lebih baik dari air rendaman kedelai. Air rebusan kedelai mengandung protein, lemak, karbohidrat, air dan abu (Sari & Rahmawati, 2020). Kandungan pada air rebusan kedelai adalah kandungan yang dibutuhkan bakteri untuk bertahan hidup. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkaji pertumbuhan bakteri *Pseudomonas fluorescens* pada media cair air rebusan kedelai.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian dilaksanakan di Kantor Koordinator Proteksi TPH Wilayah Bojonegoro, Kecamatan Bojonegoro, Kabupaten Bojonegoro dari bulan Februari sampai Maret 2021. Alat yang digunakan adalah Bunsen, Spirtus, Kompor, Dandang, *Plastic Wrab*, *Autoclave*, Tabung Reaksi, Cawan Petri, *Beaker Glass*, Galon, Airator, *Erlenmayer*, Mikropipet, Jarum OSE, Kertas Label, LAF (*Laminar Air Flow*), *Vortex Mixer*, *Hot Plate*, Timbangan Analitik, *Magnetic Stirrer* dan *Blue Tip*. Bahan yang digunakan adalah Limbah Air Rebusan Kedelai, Susu Kental Manis, Gula, Air, Aquades, PCA instan, Alkohol dan isolat bakteri *Pseudomonas fluorescens*. Bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang digunakan berasal dari koleksi Kantor Koordinator Proteksi TPH Wilayah Bojonegoro. *Pseudomonas fluorescens* yang digunakan dalam bentuk isolat pada media NA. Metode penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode penelitian kuantitatif dengan pendekatan deskriptif. Pengamatan dilakukan terhadap jumlah koloni bakteri.

### **Prosedur Penelitian**

#### **Pembuatan Media *Plate Count Agar* (PCA)**

Pembuatan media PCA yaitu dengan menyiapkan PCA instan sebanyak 1 g dan 45 mL aquades. Selanjutnya larutan PCA dipanaskan diatas *hot plate* dengan suhu 250°C sampai mendidih, setelah homogen larutan diangkat lalu di sterilisasi menggunakan *Autoclave* dengan suhu 121°C.

#### **Pembuatan Media Alternatif**

Media alternatif yang digunakan adalah air rebusan kedelai. Komposisi media yang digunakan yaitu 9L air rebusan kedelai, 9L Air, 650g gula, dan 1 saset susu kental manis. Semua bahan dicampur menjadi satu dan dimasukkan kedalam galon. Media siap untuk diinokulasi bakteri *Pseudomonas fluorescens*.

### **Inokulum Bakteri *Pseudomonas fluorescens***

Bakteri *Pseudomonas fluorescens* dalam bentuk isolat diinokulasikan ke media dengan cara melarutkan menggunakan akuades steril. Bakteri yang digunakan sebanyak 2 isolat. Galon yang sudah dimasukkan bakteri ditutup kemudian diberi aerasi dengan menggunakan aerator dan selang yang dimasukkan ke dalam galon melalui lubang penutup galon. Proses inkubasi dilakukan sampai akhir masa pengamatan selama 7 hari.

### **Pengamatan Jumlah Koloni.**

Jumlah koloni dihitung dengan cara mengambil 1 ml media cair. Kemudian dilakukan metode pengenceran dengan tingkat pengenceran  $10^{-5}$ ,  $10^{-7}$  dan  $10^{-9}$ . Pada pengenceran tersebut kemudian dituang ke dalam cawan petri yang berisi media PCA setelah itu di inkubasi pada suhu ruangan selama 2 x 24 jam dan dihitung jumlah koloni menggunakan metode TPC dengan satuan CFU.

### **Metode TPC**

Prinsip kerja analisis TPC adalah pertumbuhan mikroorganisme setelah diinkubasi dalam media agar pada suhu  $30^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam, maka mikroorganisme tersebut akan tumbuh berkembang biak dengan membentuk koloni yang dapat langsung dihitung. Jumlah koloni bakteri yang dihitung adalah cawan petri yang mempunyai koloni bakteri antara 30 - 300 koloni.

### **Analisis Data**

Data yang diperoleh disajikan dalam bentuk tabel dan gambar. Data yang diperoleh berupa suatu perhitungan untuk menghitung jumlah koloni bakteri pada media alternatif air rebusan kedelai dengan metode Uji *Total Plate Count* (TPC).

Jumlah bakteri yang tumbuh selanjutnya dikalkulasikan dengan menggunakan rumus berikut:

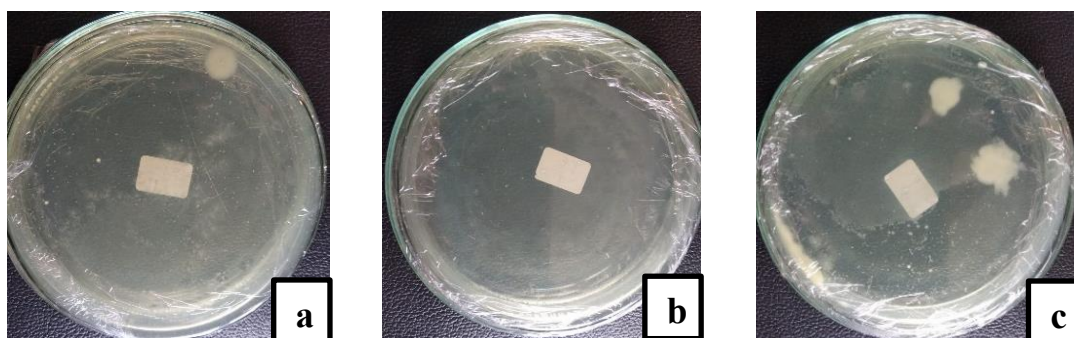
$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah koloni pada cawan} \times 1/\text{faktor pengenceran}$$

## **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Pertumbuhan bakteri terdiri dari 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner dan fase kematian. Pada fase lag peningkatan jumlah bakteri berlangsung lambat hal ini disebabkan bakteri sedang beradaptasi terhadap kondisi lingkungan (pH, suhu dan nutrisi). Fase lag terjadi sebelum minggu ke-1 pengamatan. Fase selanjutnya adalah fase eksponensial yang merupakan fase dimana pembelahan sel bakteri berlangsung sangat cepat. Fase

eksponensial terjadi diantara minggu ke 1-3. Fase berikutnya adalah fase stasioner pada fase ini bakteri memiliki jumlah populasi yang tertinggi. Populasi bakteri mengalami penurunan pada minggu ke-5 hingga ke-11. Penurunan ini disebabkan karena nutrient dalam media dan cadangan energi mulai menipis. Fase ini diketahui sebagai fase kematian sel (Abdillah, 2017).

Jumlah koloni bakteri dihitung pada hari ke-7 atau minggu pertama inkubasi yang merupakan fase eksponensial. Bakteri ditumbuhkan pada media agar selama 48 jam kemudian dihitung. Bakteri yang tumbuh berupa koloni-koloni yang sangat kecil dan berwarna putih dan menyebar di seluruh permukaan media. (Gambar 1.).



Gambar 1. Bakteri membentuk koloni pada cawan petri. (a) Pengenceran  $10^{-5}$ ; (b) Pengenceran  $10^{-7}$  dan (c) Pengenceran  $10^{-9}$

Salah satu cara menentukan mutu suatu media perbanyakan adalah dengan menghitung jumlah bakteri yang tumbuh. Perhitungan jumlah koloni bakteri pada penelitian ini dilakukan pada hari ke 7 atau minggu pertama. Pada fase ini terjadi fase eksponensial dimana bakteri mulai mampu memanfaatkan substrat yang ada untuk membelah diri, Pada fase eksponensial mikroba membelah dengan cepat dan konstan dan kecepatan pertumbuhan sangat dipengaruhi oleh media tempat tumbuhnya seperti pH dan kandungan nutrisi, juga kondisi lingkungan termasuk suhu dan kelembaban udara (Yuliana, 2008). Perhitungan jumlah bakteri pada penelitian ini dilakukan dengan metode TPC. (Tabel 1.).

Tabel 1. Jumlah koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* pada hari ke-7

Pengenceran	Jumlah Koloni/cawan	Jumlah Mikroba (CFu/ml)
$10^{-5}$	TBUD	TBUD
$10^{-7}$	65	$6,5 \times 10^8$
$10^{-9}$	TBUD	TBUD

Keterangan: TBUD = Tidak Dapat Untuk Dihitung

Berdasarkan hasil perhitungan TPC jumlah koloni bakteri *Pseudomonas fluorescens* yang diperbanyak pada media air rebusan kedelai pada pengenceran  $10^{-7}$  menunjukkan jumlah  $6,5 \times 10^8$  CFU/ml. Hal ini sesuai dengan penelitian Rohmah et al. (2013) yang menyatakan bahwa konsentrasi minimal pemberian bakteri *Pseudomonas fluorescens* mencapai  $10^5$  CFU/ml ketika diaplikasikan ke tanaman. Pemberian agen hayati dengan kepadatan yang tinggi diharapkan dapat meningkatkan jumlah mikroba antagonis yang tadinya berjumlah sedikit, atau untuk berperan dalam merangsang pertumbuhan tanaman serta untuk meningkatkan ketahanan tanaman terhadap patogen.

Hasil perhitungan jumlah bakteri yang ditumbuhkan pada media air rebusan kedelai memiliki jumlah kepadatan yang tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat kesesuaian antara media pembawa dengan pertumbuhan bakteri. Kacang kedelai (*Glycine max*) merupakan sumber protein, dan lemak, serta sebagai sumber vitamin A, E, K dan beberapa jenis vitamin B dan mineral K, Fe, Zn, dan P. Kadar protein kacang-kacangan berkisar antara 20-25%, sedangkan pada kedelai mencapai 40%. Kadar protein dalam produk kedelai bervariasi misalnya, tepung kedelai 50%, konsentrat protein kedelai 70% dan isolat protein kedelai 90% (Winarsi, 2010).

Selain membutuhkan protein sebagai sumber nutrisi, bakteri juga membutuhkan karbohidrat untuk melakukan proses metabolisme. Karbohidrat dapat berasal dari gula yang ditambahkan pada media perbanyak. Penelitian ini juga menambahkan susu kental manis sebagai karbohidrat tambahan. Selain itu susu kental manis juga mengandung banyak nutrisi yang dibutuhkan bakteri.

## **SIMPULAN DAN SARAN**

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa air rebusan kedelai dapat digunakan sebagai media perbanyak bakteri *Pseudomonas fluorescens* dan memiliki kepadatan bakteri yang tinggi dengan jumlah koloni bakteri sebesar  $6,5 \times 10^8$  CFU/ml pada minggu pertama.

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu dapat dilakukan penelitian mengenai jumlah koloni bakteri pada media air rebusan kedelai pada minggu-minggu selanjutnya untuk melihat apakah bakteri dapat bertahan hidup dan dapat menentukan masa simpan agen hayati ini.

## DAFTAR RUJUKAN

- Abdillah, I. R. (2017). Kajian Perbanyakkan *Pseudomonas pendarfluor* PF TMT 27 Pada Media Dasar Limbah Cair Tahu Diperkaya dan Potensi Antagonismenya dalam Menghambat *Phytophthora nicotianae*. (Skripsi, Universitas Jember, 2017) Diakses dari <https://repository.unej.ac.id>
- Agustina, N., Purnawati, A., & Suyatmi, L. (2021). Potensi *Pseudomonas fluorescens* Terhadap *Fusarium* sp. *In Vitro*. 55–58.
- C. Urulil, A. M. Kalay, E. K. dan A. S. (2012). Pemanfaatan kompos ela sagu, sekam dan dedak sebagai media perbanyakkan agens hayati *Trichoderma harzianum* Rifai. 1(1), 21–30.
- D'souza, M. R. 2013. *Effect of traditional processing methods on nutritional quality of field bean. Advances in Bioresarch*. 4(3): 29-33.
- Diarta, I. M., Javandira, C., & Widnyana, I. K. (2016). Antagonistik Bakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. Terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* Penyebab Penyakit Layu Tanaman Tomat. 05(01).
- Rohmah, F., Rahayu, Y. S., & Yuliani. (2013). *Trichoderma harzianum* dan Seresah Daun Jati (*Tectona grandis*) untuk Pertumbuhan Tanaman Kedelai pada Media Tanam Tanah Kapur.
- Sari, D., & Rahmawati, A. (2020). Analisa Kandungan Limbah Cair Tempe Air Rebusan dan Air Rendaman Kedela. 36–41.
- Sulistyoningtyas, M. E., Roviq, M., & Wardiyati, T. (2017). Pengaruh Pemberian PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Pada Pertumbuhan Bud Chip Tebu (*Saccharum officinarum* L.). 5(3), 396–403.
- Winarsi, H. (2010) *Protein Kedelai dan Kecambah Manfaatnya bagi Kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Yuliana, N. (2008). Kinetika Pertumbuhan Bakteri Asam Laktat Isolat T5 Yang Berasal Dari Tempoyak. *Jurnal Teknologi Industri Dan Hasil Pertanian*, 13(2), 108–116.

