

IDENTIFIKASI SURFAKTIN PADA *PSEUDOMONAS FLUORESCENS* ST1 PENGENDALI EFEKTIF PENYAKIT PUSTUL KEDELAI

Suskandini Ratih Dirmawati¹

ABSTRACT

Identification of surfactin in *Pseudomonas fluorescens* ST1 which effectively suppress soybean bacterial pustule. Identification of surfactin in *Pseudomonas fluorescens* ST1 filtrate was conducted in Plant Pest and Disease Laboratory, Bogor Agriculture University. The 48 hours cultured suspension of *P. fluorescens* ST1 with 10⁸ CFU/ml density was centrifuged to obtain the supernatant. The supernatant was analyzed for its surfactin content by High Performance Liquid Chromatography with Colum ODS-5 and eluen acetonitril and acetat acid. The result showed that surfactin was produced by *P. fluorescens* ST1 and this bioactive substance could suppress the bacterial pustule on soybean.

Key words : surfactin, *Pseudomonas fluorescens*

PENDAHULUAN

Kedelai (*Glycine max* L. Merr.) merupakan salah satu sumber protein nabati penting bagi penduduk Indonesia. Menurut Badan Pusat Statistik (2005), kebutuhan kedelai untuk konsumsi penduduk dan pakan ternak di Indonesia dari tahun ke tahun selalu menunjukkan peningkatan. Kebutuhan tersebut tidak dapat dipenuhi oleh produksi kedelai nasional karena berbagai kendala, salah satunya adalah penyakit pustul yang disebabkan oleh bakteri *Xanthomonas axonopodis* pv. *glycines*. Machmud (1990) menyatakan bahwa varietas kedelai unggul nasional maupun lokal di areal pertanaman kedelai di Lampung selalu terserang oleh bakteri penyebab pustul dan penurunan produksi akibat bakteri ini mencapai 50%.

Sinclair & Backman (1989) mengemukakan bahwa salah satu cara pengendalian penyakit pustul kedelai adalah menggunakan bakterisida. Menurut Goto (1992), efek bakterisida dimiliki oleh bakteri agensia hayati yang mungkin memproduksi antibiotik, lisozim, atau metabolit toksik seperti surfaktin sebagai mekanisme antagonisme terhadap bakteri lain. Menurut Ratih (2002), *Pseudomonas fluorescens* ST1 secara *in vitro* terbukti efektif menghambat pertumbuhan bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* N01, namun belum diketahui senyawa bioaktif yang terkandung pada bakteri agensia hayati tersebut. Menurut Lang dan Wagner (1993), beberapa jenis bakteri diantaranya *P. fluorescens* diindikasikan mampu menghasilkan senyawa antibiotik lipopeptida yang struktur kimianya

mirip dengan surfaktin. Lebih lanjut dinyatakan bahwa surfaktin adalah lipopeptida siklik yang mempunyai efek lisis bagi sistem biologi mikroorganisme lain yang ada di sekitarnya. Surfaktin dapat menghambat pembentukan protoplasma bakteri lainnya.

Berdasarkan informasi tersebut maka perlu diidentifikasi adanya dugaan senyawa bioaktif berupa surfaktin yang terkandung dalam *P. fluorescens* ST1 yang terbukti efektif sebagai agensia hayati terhadap bakteri penyebab pustul kedelai.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dari Januari sampai dengan Mei 2004 di Laboratorium Bakteriologi Tumbuhan Departemen Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor. Isolat bakteri agensia hayati *P. fluorescens* ST1 maupun bakteri *X. axonopodis* pv. *glycines* N01 penyebab pustul kedelai diperoleh melalui isolasi dengan teknik pencawanan dari rizosfer kedelai di Natar, Lampung Selatan (Ratih, 2002). Selanjutnya isolat murni bakteri dipelihara dalam medium selektif King's B dengan komposisi proteose pepton, K₂HPO₄, MgSO₄ dan gliserol untuk menunjukkan adanya pigmen fluoresein yang berpendar yang menjadi karakteristik *P. fluorescens* (Fahy & Persley, 1983).

Isolat murni *P. fluorescens* ST1 berumur 48 jam dengan kerapatan 10⁸ CFU/ml dibuat 1,0 ml suspensi, kemudian disentrifugasi menggunakan High Speed Micro Refrigerator Centrifuge MRX-151 Induction

¹ Jurusan Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Lampung Jl. Prof. Soemantri Brodjonegoro No. 1 Bandar Lampung 35145

Drive, kecepatan 11000 rpm selama 30 menit. Supernatan yang diperoleh disaring dengan membran nitroselulosa berporositas 0,2 μm agar diperoleh surfaktin yang tidak bercampur dengan sel bakteri.

Selanjutnya analisis surfaktin dilakukan dengan metode kromatografi cair bertekanan tinggi menggunakan kolom ODS-5 serta eluen asetonitril dan asam asetat (Lin, 1993). Sebagai senyawa standar digunakan surfaktin yang diproduksi oleh *B. subtilis* ATCC-21332 produk Sigma Laboratories.

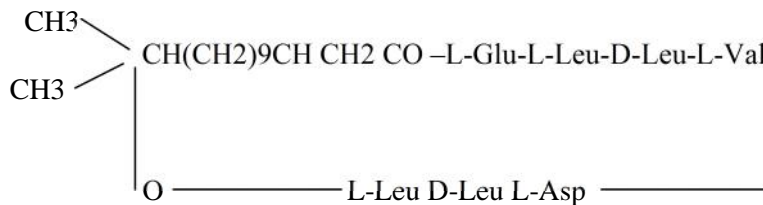
HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis senyawa bioaktif dalam filtrat bakteri agensia hayati *P. fluorescens* ST1 menunjukkan adanya senyawa yang serupa dengan surfaktin. Struktur kimia surfaktin disajikan pada Gambar 1.

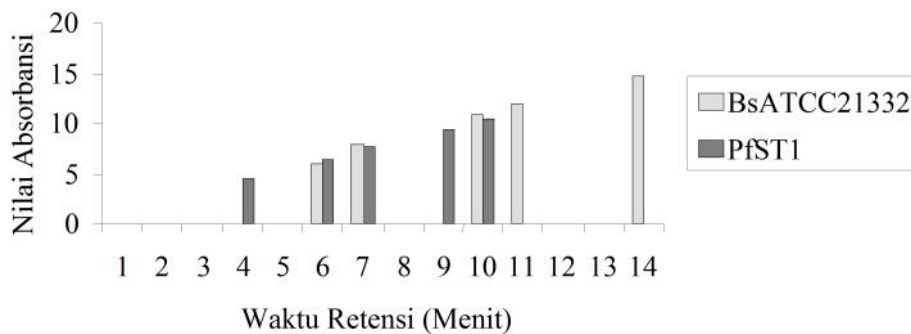
Surfaktin pada supernatan *P. fluorescens* ST1 dibandingkan dengan 100 ppm surfaktin standar yang berasal dari bakteri *Bacillus subtilis* ATCC-21332 (Sigma Laboratories). Gambar 2 dan 3 menunjukkan waktu retensi supernatan bakteri *P. fluorescens* ST1 adalah 4,38; 6,28; 7,66; 9,46 dan 10,53 menit dengan tiga puncak absorbansi dominan terdeteksi pada waktu retensi antara 6 sampai 11 menit. Dibandingkan dengan

surfaktin standar yang diambil dari *B. subtilis* ATCC-21332, kedua bakteri sama-sama menunjukkan 5 puncak absorbansi dengan waktu retensi 6,04; 7,85; 10,77; 11,82 dan 14,70 menit, tiga puncak absorbansi surfaktin standar dominan pada waktu retensi antara 7 hingga 11 menit.

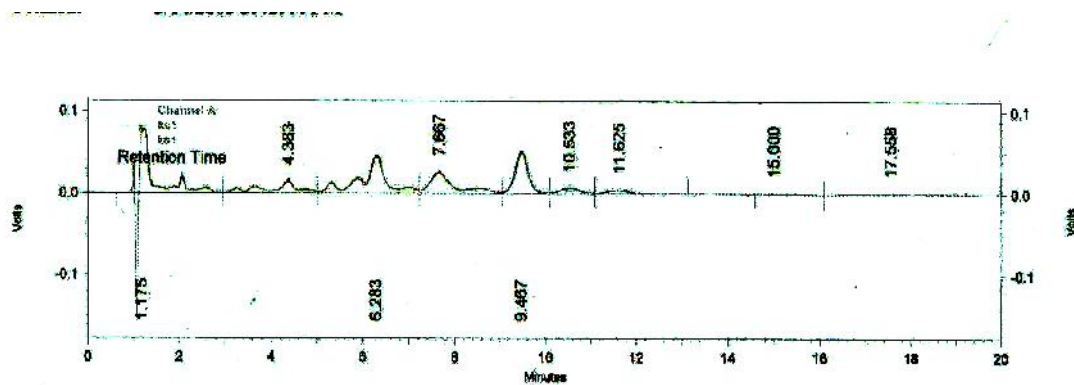
Waktu retensi menjadi indikasi adanya senyawa surfaktin. Hal ini sesuai dengan penelitian Lin (1993) bahwa identifikasi surfaktin dengan metode kromatografi cair bertekanan tinggi menggunakan kolom ODS-5 serta eluen asetonitril dan asam asetat yang dilakukannya menghasilkan 5 puncak absorbansi dan 3 diantaranya dominan dengan waktu retensi antara 6 hingga 15 menit. Selanjutnya Desai dan Desai (1993) menjelaskan bahwa surfaktin yang terdeteksi pada puncak absorbansi dengan waktu retensi antara 6 hingga 15 menit merupakan senyawa yang tergolong lipopeptida siklik. Kemiripan absorbansi surfaktin *P. fluorescens* ST1 dengan *B. subtilis* ATCC-21332 merupakan indikasi bahwa surfaktin dalam supernatan *P. fluorescens* ST1 berupa lipopeptida yang serupa dengan surfaktin *B. subtilis* ATCC-21332. Menurut Desai & Desai (1993), struktur serta sifat fisik kimia surfaktin yang diproduksi oleh *B. subtilis* ATCC-21332 sama dengan surfaktin yang diproduksi *B. subtilis* QMB atau likenisin yang



Gambar 1. Struktur kimia Surfaktin (Sumber: Hommel & Ratledge, 1993)



Gambar 2. Absorbansi dan Waktu Retensi yang ditunjukkan dalam Kromatografi Cair Tekanan Tinggi pada Surfaktin Standar dan bakteri PfST1



Gambar 3. Kromatogram supernatan *P. fluorescens* ST1

diproduksi oleh *B. licheniformis* JF₂ atau BL 86. Dengan menggunakan metode kromatografi cair bertekanan tinggi, ketiga jenis senyawa yang tergolong biosurfaktan ini dapat terdeteksi dalam puncak absorbansi dengan waktu retensi yang berdekatan.

Lang & Wagner (1993) menyatakan bahwa surfaktan yang merupakan lipopeptida siklik selain berfungsi menurunkan tegangan permukaan zat cair juga merusak sferoplas serta protoplas bakteri lain yang berada di dekat bakteri penghasilnya. Hal ini dinyatakan oleh Desai & Desai (1993) bahwa surfaktan *B. subtilis* dengan konsentrasi 5µg/l ternyata dapat menghambat pertumbuhan *Mycobacterium* spp. Fungsi surfaktan sebagai antimikroba berkaitan dengan kemampuannya mengikat molekul hidrofobik pada membran bakteri. Lebih lanjut dikemukakan oleh Hommel & Ratledge (1993) bahwa keefektifan surfaktan sebagai senyawa antimikroba bergantung kepada konsentrasi surfaktan dan ketahanan membran mikroorganisme yang ada di sekitarnya yang dapat dihambatnya.

Berdasarkan informasi keefektifan *P. fluorescens* ST1 terhadap *X. axonopodis* pv. *glycines* N01 yang telah diteliti sebelumnya, tampaknya molekul hidrofobik pada membran bakteri penyebab pustul kedelai ini tidak terlalu kuat sehingga dapat diikat oleh senyawa surfaktan yang diproduksi oleh *P. fluorescens* ST1.

SIMPULAN

Agensia hayati *P. fluorescens* ST1 yang efektif menghambat *X. axonopodis* pv. *glycines* N01 ternyata mempunyai kandungan surfaktan serupa dengan surfaktan standar yang berasal dari *B. subtilis* ATCC-21332 dan tergolong senyawa lipopeptida.

DAFTAR PUSTAKA

- Badan Pusat Statistik. 2005. *Produksi Tanaman Padi dan Palawija di Indonesia*. Survei Pertanian. Jakarta.
- Desai, J.D. & A.J. Desai. 1993. *Production of Biosurfactants*. Dalam Kosaric N, editor Biosurfactants. Production. Properties. Applications. Marcel Dekker Inc. New York. Hlm. 279-345.
- Fahy, P.C. & G.J. Persley. 1983. *Plant Bacterial Diseases*. A Diagnostic Guide. Academic Press. Australia.

- Goto, M. 1992. *Fundamentals of Bacterial Plant Pathology*. Academic Press Limited London.
- Hommel, R.K. & C. Ratledge. 1993. *Biosynthetic Mechanism of Low Molecular Weight Surfactants and Their Precursor Molecules*. Dalam Kosaric N, editor *Biosurfactans. Production. Properties. Applications*. Marcel Dekker Inc. New York. Hlm. 206-278.
- Lang, S. & F. Wagner . 1993. *Bioconversion of Oils and Sugars to Glycolipids*. Dalam Kosaric N, editor. *Biosurfactans. Production. Properties. Application*. Marcel Dekker. New York. Hlm 346-382.
- Lelliot, R.A. & D.E. Stead. 1987. *Methods for the Diagnosis of Bacterial Diseases of Plants*. Blackwell Scientific Publication. Australia.
- Lin, S. 1993. Biosurfactant : Recent Advances. *J. Chem. Tech. Biotechnol.* 66 : 109-120.
- Machmud, M. 1990. *Penyakit Bakteri pada Tanaman Pangan dan Hortikultura: Masalah dan Strategi Pengendaliannya*. Dalam Pawiroesoemardjo S *et al.* editor. 1990. *Perlindungan Tanaman. Menunjang Terwujudnya Pertanian Tangguh dan Kelestarian Lingkungan*. Penerbit PT. Agricon. Bogor. Hlm. 233-251.
- Dirmawati, R. S. 2002. *Kajian Pengendalian Ramah Lingkungan Terhadap Penyakit Pustul Bakteri (*Xanthomonas axonopodis* pv, *glycines*) pada Kedelai secara In Vitro*. Makalah Ilmiah. Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor. Tidak dipublikasikan.
- Sinclair, J.B. & B.A. Backman. 1989. *Compendium of Soybean Diseases*. 3 rd Ed. The American Phytopathological Society. United States of America.