

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI TANAH YANG TERDAPAT DI SEKITAR PERAKARAN TANAMAN

ISOLATION AND IDENTIFICATION SOIL BACTERIA AROUND PLANT ROOTS

Dwi Ratna Sari

Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto
tsabat.nana@gmail.com

ABSTRACT

The soil is one habitat of various bacteria. Rhizosphere microbes in the soil near the roots can be beneficial to the plants by forming nodules in some plants Leguminoceae. The bacteria are very helpful in chemical changes in the soil so that the chemicals can be absorbed by plants. The purpose of this research was to determine the type of bacteria that has been found in the soil near and away from plant roots. Bacteria was isolated from soil near and away from the roots at the level 10-5, 10-6, and 10-7 of dilution, each inoculated in duplicate on media Nutrient Agar (NA) and incubated for 2x24 hours. Grown colonies and colonies that had thin, beige or transparent, size medium (3mm), and Gram negative characters were sub-cultured. Selected cultures were suspended in concentration about 10⁸ cells / mL 30-50 mL. The identification used the API 20NE. One strip API 20NE. Identification results indicated a positive color change in the media. The research obtained bacteria that has been found near plant roots was *Pseudomonas luteola*, whereas the bacteria that has been found in away plant roots soil was *P. aureuginosa*.

Keyword: soil bacteria, plant roots

PENDAHULUAN

Tanah merupakan suatu media yang digunakan sebagai tempat hidup dan pertumbuhan mikroorganisme secara kompleks. Mikroba dapat hidup di tanah dengan memanfaatkan semua nutrisi yang ada di dalamnya dan dapat dimanfaatkan dalam pertanian ataupun perkebunan. Peranan terpenting mikroba tanah ialah fungsinya yang membawa perubahan kimiawi pada substansi-substansi di dalam tanah, terutama perubahan senyawa organik yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor menjadi senyawa anorganik. Proses ini disebut dengan mineralisasi, dimana di dalamnya terlibat sejumlah besar perubahan kimiawi dengan peranan berbagai macam mikroorganisme. Proses tersebut dapat diawali dengan siklus nitrogen yang terdapat di dalam

tanah yang dapat mengubah senyawa anorganik menjadi senyawa organik oleh mikroorganisme (Pelczar dan Chan, 1988).

Mikroba Rhizosfer yang berada di dalam tanah dekat perakaran dapat bersifat menguntungkan dan ada juga yang merugikan, netral atau variable terhadap tanaman. pengaruh menguntungkan anatara lain dalam stabilitas tanah, penyerapan air dan nutrisi, memacu pertumbuhan, fiksasi N₂, pengendalian hayati, anhtibiosis dan simbiosis. Peran mikroba rhizosfer dalam penyediaan nutrisi apda tanaman adalah dengan cara mengubah sifat morfologi dan fisiologi akar serta sistem tanaman, mengubah fase keseimbangan nutrisi sehingga mudah ditransport ke permukaan akar dan atau diabsorpsi, mengubah komposisi kimia tanah, melakukan

transfer nutrisi langsung dari mikroba simbiosis ke inang melalui proses simbiotik, dan menghambat area penyerapan pada akar tumbuhan atau berkompetisi dalam mendapatkan makanan (Nye dan Tinker, 1977 dalam Irianto, 2002).

Mikroba dalam lingkungan tanah dapat berperan utama dalam aliran energi dan daur nutrisi yang berkaitan dengan produktivitas primer. Daerah perakaran tumbuhan secara umum disebut dengan rizosfer sedangkan daerah di sekitar tumbuhan disebut dengan filosfer. Perakaran tumbuhan pada saat biosintesis akan memasok oksigen ke rizosfer atau sebaliknya pada saat respirasi akan membebaskan karbondioksida pada rizosfer. Perakaran secara berkelanjutan akan membebaskan nutrisi yang berasal dari eksudat, sekresi akar atau lisisnya sel-sel di perakaran. Beragam mikroba hidup dan berkembang di rizosfer termasuk di permukaan perakaran (*rhizoplane*) dan mendapatkan keuntungan dari ketersediaan oksigen dan nutrisi (Irianto, 2002).

Beberapa jenis bakteri tanah yang terdapat di sekitar tanaman adalah *Rhizobium* sp., *Bradyrhizobium japonicum*, *Frankia*, dan *Cyanobacteria*. Bakteri melalui asosiasi simbiotik tersebut memperoleh sumber energi dan tempat tumbuh yang lebih baik, sedangkan tanaman akan memperoleh unsur hara N dan faktor tumbuh, sehingga keduanya memperoleh manfaat dari asosiasi tersebut. *Rhizobium* dan *Bradyrhizobium japonicum* mempunyai toleransi yang rendah terhadap cekaman yang disebabkan oleh pH rendah pada tanah yang pelapukannya lanjut,

tetapi beradaptasi cukup baik pada kondisi semiarid (Woomer *et al.*, 1997).

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui jenis bakteri tanah yang terdapat di dekat perakaran tanaman dan jauh dari perakaran tanaman.

METODE PENELITIAN

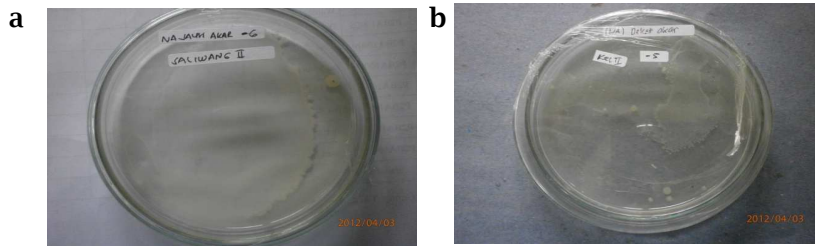
Alat-alat yang digunakan antara lain sendok steril, spatula, tabung reaksi (IWAKI Pyrex, Japan), drúgalsky, jarum inokulasi, mikropipet, pembakar bunsen, rak tabung reaksi, cawan petri, penangas. Bahan-bahan yang digunakan adalah media Nutrient Agar (NA) dengan komposisi *Beef extract* 3 g, *peptone* 5 g, Agar 15 g, akuades hingga 1000 ml, plastik, wrapping, aluminium foil, kapas, tisu, alkohol.

Satu gram tanah dekat/ yang menempel di perakaran 15 cm dari permukaan tanah diambil (dicari tanaman soliter yang mudah dijangkau bagian-bagiannya, misal tanaman kedele atau rumpun padi). Selanjutnya 1 g tanah dari tempat dan kedalaman yang sama serta berjarak 20 cm dari tanaman juga diambil. Sampel tanah diencerkan hingga 10^{-7} , kemudian 3 pengenceran terakhir dinokulasi ke media NA secara duplo. Sampel diinkubasi selama 2x24 jam, dihitung dan diamati ciri-ciri koloni. Diambil satu koloni yang memiliki ciri tipis, krem atau transparan, ukuran koloni sedang (3mm), dan Gram negatif. Selanjutnya koloni terpilih disub-kultur dan disimpan kembali hingga 2x24 jam. Kemudian kultur yang terpilih dibuat suspensi dengan konsentrasi sekitar 10^8 sel/mL sebanyak 30-50 mL. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan metode API 20NE. Satu strip API 20NE disiapkan untuk identifikasi cepat,

isikan pada masing-masing kupula (kantong kecil) suspensi bakteri sesuai petunjuk API, inkubasikan 1x24 jam. Selanjutnya hasilnya dibaca

(untuk bakteri yang bersifat anaerob, mulut kupula pada strip API 20NE ditutup dengan paraffin cair).

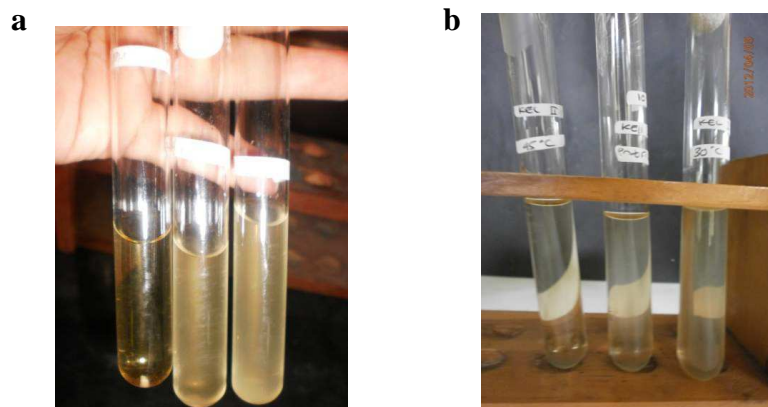
HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. a. Isolat Jauh dari Perakaran, b. Isolat Dekat Perakaran

Koloni bakteri yang terdapat di daerah jauh perakaran menunjukkan koloni yang berbentuk bulat, ukuran sedang, permukaan kasar, margin bergerigi, dan berwarna kuning (gambar 1a). Ciri koloni yang terisolasi

pada daerah dekat perakaran adalah berbentuk bulat, ukuran kecil dan sedang, permukaan halus mengkilat, margin rata, dan berwarna putih (gambar 1b).



Gambar 2. a. Uji bakteri tanah terhadap Ph, b. Uji bakteri tanah terhadap suhu 45°C, 10°C, dan 30°C

Berdasarkan hasil penelitian, baik isolat dari tanah dekat perakaran dan tanah jauh dari perakaran yang ditumbuhkan pada media dengan pH 4 dan 5, menunjukkan koloni yang terbentuk sedikit (media cair keruh). Sedangkan pada pH 7 menunjukkan terbentuknya koloni yang melimpah, yang ditandai dengan media cair sangat keruh, sedikit (gambar 2a).

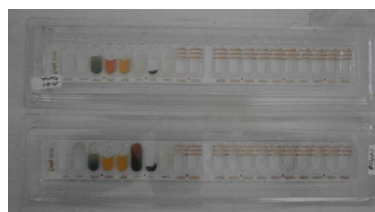
Menurut Meryandini *et al.* (2009), aktivitas enzim bakteri tanah optimum pada pH 5. Aktivitas enzim dipengaruhi oleh pH, karena sifat ionik gugus karboksil dan gugus amino bakteri mudah dipengaruhi oleh pH. Perubahan pH atau pH yang tidak sesuai akan menyebabkan daerah katalitik dan konformasi enzim bakteri berubah. Selain itu perubahan pH juga menyebabkan denaturasi

enzim dan mengakibatkan hilangnya aktivitas enzim. Isolat-isolat yang dikarakterisasi menunjukkan keragaman pH optimum. Isolat-isolat yang diisolasi dari tanah pertanian umumnya bersifat asam dan serasah yang umumnya bersifat alkali hingga netral (Meryandini *et al.*, 2009).

Selain pH, suhu juga akan mempengaruhi pertumbuhan bakteri. Berdasarkan hasil penelitian, isolat dari tanah perakaran relatif tidak tahan terhadap suhu 10 °C, sedangkan isolat dari tanah lumpur lebih toleran. Pada suhu tinggi (45°C) isolat dari tanah perakaran dan tanah jauh dari perakaran, tidak mampu mentoleransi suhu yang ditunjukkan tidak adanya pertumbuhan koloni, sedangkan pada suhu 30°C merupakan suhu optimum bakteri tumbuh yang ditandai dengan keruhnya media cair (gambar 2b). Menurut Meryandini *et al.* (2009) suhu memainkan peranan yang sangat penting dalam reaksi enzimatik. Ketika suhu bertambah sampai suhu optimum, kecepatan reaksi enzim naik karena energi kinetik bertambah. Bertambahnya energi kinetik akan mempercepat gerak vibrasi, translasi, dan rotasi baik enzim maupun substrat. Hal ini akan memperbesar peluang enzim dan substrat bereaksi.

Ketika suhu lebih tinggi dari suhu optimum, protein berubah konformasi sehingga gugus reaktif terhambat. Perubahan konformasi ini dapat menyebabkan enzim terdenaturasi. Substrat juga dapat berubah konformasinya pada suhu yang tidak sesuai, sehingga substrat tidak dapat masuk ke dalam sisi aktif enzim. Kondisi alami bakteri selulolitik yang berperan sebagai dekomposer memungkinkan bakteri memiliki sistem enzim yang optimum pada suhu tinggi. Hal ini disebabkan

suhu pada proses pengomposan cenderung naik hingga 70°C (Meryandini *et al.*, 2009).



Gambar 3. Uji suspensi bakteri pada sumuran API untuk identifikasi cepat

Media API 20NE merupakan media yang dapat digunakan untuk identifikasi bakteri Gram negatif berbentuk batang selain kelompok enterobacter. Media yang digunakan merupakan media yang mengandung berbagai macam gula dan senyawa kimia lain. Uji positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada media di setiap kupula (gambar 1). Hasil pengujian isolat bakteri yang berada dekat perakaran dan jauh perakaran dapat dilihat pada tabel 1 yang menunjukkan isolat bakteri yang didapat ada yang mampu menggunakan gula untuk pertumbuhannya dan ada juga yang tidak mampu menggunakan gula untuk pertumbuhannya. Perbedaan penggunaan gula pada setiap isolat berdasarkan pada karakteristik dan kemampuan bakteri dalam mendegradasi gula maupun senyawa kimia lainnya.

Berdasarkan hasil identifikasi bakteri menggunakan media API 20NE bakteri dekat daerah perakaran (tabel 2) adalah spesies *Pseudomonas luteola*. Menurut Chang *et al.* (2001) *P. luteola* merupakan bakteri yang dapat diisolasi dari lumpur limbah, bakteri ini diketahui mampu mendegradasi pewarna tekstil sintesis. Pada tabel 3

terlihat bahwa bakteri yang ditemukan pada daerah yang jauh dari perakaran.

Tabel 1. Identifikasi Bakteri dari Tanah dekat Rizosfer dan jauh dari Rizosfer menggunakan metode API 20NE

Tipe gula yang diuji	Dekat perakaran	Jauh perakaran
NO ₂	-	+
TRP	+	-
GLU	-	+
ADH	+	-
NRE	-	-
ESC	-	+
GEL	+	+
PNPG	+	+
GLU	+	+
ARA	-	-
MNE	+	+
MAN	-	+
NAG	+	+
MAL	+	+
GNT	-	+
CAP	+	-
ADI	-	-
MLT	+	+
CIT	+	+
PAC	-	-

Keterangan : + bakteri mampu menggunakan gula
-Bakteri tidak menggunakan gula

Tabel 2. Hasil identifikasi API isolat bakteri dekat perakaran

Significant taxa	% ID	T	Tests againts	
<i>Pseudomonas luteola</i>	99,8%	0,47	URE 1%	NAGa 12%

Tabel 2. Hasil identifikasi API isolat bakteri Jauh dari perakaran

Significant taxa	% ID	T	Tests againts			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	URE 20%	MANa 89%	MALa 1 %	ADLa 91%
			CITa 99 %	Ox 98%	-	-

Pseudomonas aeruginosa merupakan patogen utama bagi manusia. Bakteri ini kadang-kadang mengkoloni pada manusia dan menimbulkan infeksi apabila fungsi pertahanan inang abnormal. Oleh karena itu, *P. aeruginosa* disebut patogen oportunistik, yaitu memanfaatkan kerusakan pada mekanisme pertahanan inang untuk memulai suatu infeksi. Bakteri ini dapat juga tinggal pada manusia yang normal dan berlaku sebagai saprofit pada usus normal dan pada kulit manusia. Tetapi, infeksi *P. aeruginosa* menjadi problema serius pada pasien rumah sakit yang menderita kanker, fibrosis kistik dan luka bakar (Hauser dan Sriram, 2005).

Akar tanaman merupakan habitat yang baik bagi pertumbuhan mikroba. Interaksi antara bakteri dan akar tanaman akan meningkatkan ketersediaan nutrien bagi keduanya. Permukaan akar tanaman disebut rhizoplane. Sedangkan rhizosfer adalah selapis tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar. Tebal tipisnya lapisan rhizosfer antar setiap tanaman berbeda.

Rhizosfer merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan mikroba oleh karena akar tanaman menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menstimulir pertumbuhan mikroba. Bahan organik

yang dikeluarkan oleh akar dapat berupa:

1. Eksudat akar
2. Bahan yang dikeluarkan dari aktivitas sel akar hidup seperti gula, asam amino, asam organik, asam lemak dan sterol, faktor tumbuh, nukleotida, flavonon, enzim, dan *miscellaneous*.
3. Sekresi akar, bahan yang dipompakan secara aktif keluar dari akar.
4. Lisat akar, bahan yang dikeluarkan secara pasif saat autolisis sel akar.
5. Musigel, bahan sekresi akar, sisa sel epidermis, sel tudung akar yang bercampur dengan sisa sel mikroba, produk metabolit, koloid organik dan koloid anorganik

Dengan adanya berbagai senyawa yang menstimulir pertumbuhan mikroba, menyebabkan jumlah mikroba di lingkungan rhizosfer sangat tinggi. Perbandingan jumlah mikroba dalam rhizosfer (R) dengan tanah bukan rhizosfer (S) yang disebut nisbah R/S, sering digunakan sebagai indeks kesuburan tanah. Semakin subur tanah, maka indeks R/S semakin kecil, yang menandakan nutrisi dalam tanah bukan rhizosfer juga tercukupi (subur). Sebaliknya semakin tidak subur tanah, maka indeks R/S semakin besar, yang menandakan nutrisi cukup hanya di lingkungan rhizosfer yang berasal dari bahan organik yang dikeluarkan akar, sedang di tanah non-rhizosfer nutrisi tidak mencukupi (tidak subur). Nilai R/S umumnya berkisar antara 5-20 (Wijayanti, 2009).

Populasi bakteri, jamur, virus dan *Actinomyces* lebih banyak terdapat dalam tanah yang termasuk rizosfer daripada tanah non rizosfer. Pertumbuhannya diaktivasi oleh bahan nutrisi yang dilepaskan jaringan

tanaman, misalnya asam amino, vitamin dan zat hara lainnya. Populasi mikroorganisme dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu jumlah dan macam hara, kelembaban, tingkat aerasi, suhu, pH dan pemupukan (Wijayanti, 2009).

Pertumbuhan mikroorganisme pada pH optimal antara 6,5-8,0 dan pada suhu optimal antara 25-30 °C. Tanah pertanian yang subur mengandung 2.500.000.000 bakteri, 700.000 *Actinomyces*, 400.000 jamur, 50.000 algae dan 30.000 protozoa per gram tanah. Pada tanah yang kering dan panas (hangat) banyak ditemukan *Actinomyces* (Wijayanti, 2009).

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dan pembahasan, bakteri yang diperoleh dari daerah tanah perakaran adalah *Pseudomonas luteola*, sedangkan bakteri yang terdapat di tanah jauh perakaran adalah *P. aureuginosa*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih diucapkan kepada dosen pembimbing, keluarga, dan rekan-rekan mahasiswa satu angkatan di Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman atas saran dan bantuan yang diberikan dalam penelitian ini. Ucapan terimakasih juga diucapkan kepada laboran dan teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman yang telah memberikan fasilitas untuk penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Chang, J. S., Y.C. L.Chou, T. L. Hu, P.J. Lin, J. Y. Ho. 2001. Kinetic Characteristics Of Bacterial Azo-Dye Decolorization By

- Pseudomonas Luteola*. Elsevier Science 35 (12): 2841-2850
- Feliatra. 2002. Sebaran Bakteri *Escherichia Coli* Di Perairan Muara Sungai Bantan Tengah Bengkalis Riau. *Mikrobiologi Laut, Faperika*.179-181.
- Hauser, A. R. dan P. Sriram. 2005. Severe *Pseudomonas aeruginosa* Infections Tackling The Conundrum Of Drug Resistance. *Postgraduate Medicine*,117(1):41-48.
- Irianto, A. 2002. Mikrobiologi Lingkungan. Universitas Terbuka Jenderal Soedirman, Purwokerto.
- Kahindi, J.H.P., P. Woomer, T. George, F.M.D.S. Moreira, N.K. Karanja and K.E. Giller. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics : the role of nitrogen-fixing bacteria. *Applied soil Ecology* 6 : 55 - 76.
- Meryandini, A., W. Widosari, B. Maranatha, T. C. Sunarti, N. Rachmania, dan H. Satria. 2009. Isolasi Bakteri Selulolitik Dan Karakterisasi Enzimnya. *Makara, Sains*, 13(1): 33-38.
- Nababan, B. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pendegradasi Minyak Solar dari Laut Belawan Sekolah Pascasarjana. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Pelczar dan Chan. 1988. Dasar-Dasar Mikrobiologi. Penerjemah: Hadioetomo, R.S., T. Imas, S.S. Tjitrosomo, dan S. L. Angka. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Zulham, A. Mengelola pertanian pada lahan tsunami . Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Nanggroe Aceh Darussalam.
- Sumastri. 2001. Bioremediasi Lumpur Minyak Bumi Secara Pengomposan Menggunakan Kultur Bakteri Hasil Seleksi. Laporan Penelitian. PPPPTK IPA Bandung.
- Wijayanti, E. D. 2009. Isolasi dan Uji Aktivitas Antimikrobia dari Isolat *Streptomyces* Terhadap *Escherichia*
- Wijayartih, Y., B. Rajaguguk, E. Martani, I.D. Prijambada. 2008. Karakteristik Konsorsium Bakteri Perombak Dibenzofuran dari Sedimen Mangrove. *Jurnal Manusia dan Lingkungan*, 15 (2) : 59-69.