

DOI <http://dx.doi.org/10.36722/sst.v6i2.662>

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Asal Tanah Desa Akar-Akar, Lombok Utara

Shania Corolla Azzahra¹, Yunus Effendy¹, Sudono Slamet²

¹ Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al Azhar Indonesia, Kompleks Masjid Agung Al Azhar Jl. Sisingamangaraja Kebayoran, Jakarta Selatan, 12110

² Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi, BATAN, Jl. Lebak Bulus Raya No. 49, Jakarta Selatan, 12440

Penulis untuk korespondensi/E-mail: corollazzahra@gmail.com

Abstract – Plant Root Growth Promoting Bacteria or PGPR are bacteria that colonize plant rooting areas or the rhizosphere to increase the quality or quantity of plant growth. PGPR can provide dissolved phosphate for plants to be absorbed by the plant root system since 95-99% of phosphate in nature is present in insoluble form. Soil samples from different irrigation systems from Akar-akar village were isolated through serial dilution techniques and grown on NA media shown that the higher the dilution, the fewer colonies that grew on the media. Macroscopic and microscopic observations were made to see the criteria for bacteria, shown that the bacteria in the three soil samples were gram negative and was known that bacillus and cocobacillus bacteria present in the three soil samples. Coccus bacteria was found in soil without irrigation and drip-surface irrigated soil, while streptococcus bacteria was found in drip-surface and drip-subsurface irrigated soil. As many as 22 bacterial isolates were isolated and grown on Pikovskaya media, only one bacterial colony was phosphate solvent through a clear zone that grew around the bacterial colony. The bacterial colony has a phosphate dissolving index (IPF) of 250, the ratio between colony diameter and clear zone diameter was 1: 1.5.

Abstrak – Bakteri Pemacu Pertumbuhan Akar Tanaman atau PGPR merupakan bakteri yang berkoloni pada area pengakaran tanaman atau rizosfer untuk meningkatkan kualitas atau kuantitas pertumbuhan tanaman. PGPR dapat menyediakan P (fosfat) terlarut untuk tanaman agar dapat terserap oleh sistem perakaran tanaman karena 95-99% fosfat di alam hadir dalam bentuk tidak larut. Sampel tanah dari sistem irigasi berbeda asal desa Akar-akar diisolasi melalui teknik pengenceran bertingkat dan ditumbuhkan pada media NA memperlihatkan bahwa semakin tinggi pengenceran maka semakin sedikit koloni yang tumbuh pada media. Pengamatan makroskopis dan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui karakteristik bakteri. Hasil isolasi dan karakterisasi PGPR asal tanah desa Akar-akar memperlihatkan bahwa bakteri pada ketiga sampel tanah bersifat gram negatif serta diketahui bahwa bakteri bacillus dan cocobacillus dapat ditemui pada ketiga sampel tanah. Bakteri coccus hanya dapat ditemui pada sampel tanah tanpa irigasi dan sampel tanah irigasi tetes, sedangkan bakteri streptococcus hanya dapat ditemui pada sampel tanah irigasi tetes dan irigasi leb. Sebanyak 22 isolat bakteri yang berhasil diisolasi dan ditumbuhkan pada media Pikovskaya memperlihatkan hanya satu koloni bakteri bersifat pelarut fosfat melalui zona bening yang tumbuh disekitar koloni bakteri. Koloni bakteri tersebut memiliki indeks pelarutan fosfat (IPF) sebesar 250, serta rasio antara diameter koloni dan diameter zona bening adalah 1:1,5.

Keywords – PGPR, Drip-surface irrigated soil, Drip-subsurface irrigated soil

PENDAHULUAN

Desa akar-akar, kecamatan Bayan termasuk salah satu wilayah yang berada di kawasan gunung Rinjani dan didominasi oleh lahan kering sebesar 30% dari 38.000 ha luas wilayahnya. Sebagian besar lahan kering dimanfaatkan untuk pertanian jagung dan ubi kayu, sehingga masyarakat setempat memanfaatkan dua sistem irigasi utama untuk memaksimalkan potensi lahan kering desa Akar-akar, yaitu sistem irigasi Tetes dan sistem irigasi Leb [1, 2]. Sistem irigasi Tetes memanfaatkan kontinuitas tetesan air dari pipa-pipa yang dipasang di permukaan tanah, sedangkan sistem irigasi Leb memanfaatkan daya kapilaritas tumbuhan dengan menyalurkan air langsung ke area perakaran tanaman di dalam tanah [3, 4]. Umumnya, petani memanfaatkan pupuk kimia untuk membantu penyuburan tanah dan pertumbuhan tanaman, namun karena penggunaannya sangat beresiko buruk untuk lingkungan, maka dimanfaatkan bakteri pemacu pertumbuhan akar tanaman di dalam area perakaran tanaman sebagai pupuk hayati (yang selanjutnya disebut sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* atau PGPR) [5].

PGPR merupakan koloni bakteri di dalam rizosfer yang berkoloni pada area pengakaran tanaman untuk meningkatkan kualitas atau kuantitas pertumbuhan tanaman dan memanfaatkan eksudat akar sebagai sumber nutrisi bakteri [6]. PGPR dapat menyediakan P (fosfat) terlarut di dalam tanah untuk kebutuhan tumbuh dan kembang tanaman. Peran PGPR terutama BPF (bakteri pelarut fosfat) sebagai pelarut P sangat dibutuhkan tanaman karena 95-99% dari kelimpah fosfat di dalam tanah tidak tersedia dalam bentuk larut sehingga tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. BPF dapat menyediakan P terlarut tanaman dari bentuk tidak larut dengan menghasilkan sekresi asam-asam organik untuk melepaskan unsur P dari kompleks penyusunnya. Kehadiran BPF di dalam tanah dapat diukur secara kualitatif melalui uji pelarut fosfat dengan ditumbuhkan di media Pikovskaya yang mengandung mineral fosfat tidak larut [7, 8]. Bakteri yang mampu melarutkan fosfat setelah tumbuh di media Pikovskaya dapat ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar pertumbuhan koloni bakteri, kemudian dapat ditentukan IPF (indeks pelarutan fosfat) dengan persamaan [9]:

$$IPF = [(dKoloni + dZona) / dKoloni] \times 100 \quad (1)$$

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan karakterisasi PGPR yang dapat dikultur asal tanah

desa Akar-akar, kecamatan Bayan, Lombok Utara. Manfaat penelitian ini agar diperoleh informasi mengenai PGPR asal tanah desa Akar-akar sehingga dapat dikarakterisasi dan dieksplor lebih jauh. Selanjutnya, informasi tersebut dapat digunakan untuk uji fungsional lainnya.

METODE

Tempat dan Waktu Kegiatan

Penelitian dilakukan di laboratorium Pemupukan dan Nutrisi Tanaman, Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN. Penelitian dilaksanakan dari 20 Agustus 2019 sampai 21 Oktober 2019. Penelitian dilakukan selama lima hari dalam seminggu.

Isolasi Bakteri

Sebanyak 1 gr sampel tanah di larutkan ke dalam 9 mL larutan garam fisiologis NaCl 0.85% kemudian di homogenkan yang kemudian disebut sebagai pengenceran 10^{-1} . Campuran larutan dari pengenceran 10^{-1} diambil sebanyak 1 mL untuk dilarutkan kembali ke dalam 9 mL larutan garam fisiologi NaCl lainnya dan dihomogenkan yang kemudian disebut sebagai pengenceran 10^{-2} . Langkah tersebut diulang hingga didapatkan pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} . Sebanyak 0,1 mL dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} diambil dan diinokulasikan ke dalam media *Nutrient Agar* menggunakan metode *spread plate*, kemudian ditumbuhkan dalam suhu ruang selama 48 jam.

Total Plate Count (TPC) dan Pengamatan Karakter Makroskopis

Bakteri hasil isolasi setelah 48 jam pertumbuhan kemudian dihitung jumlah koloni dalam satu cawan petri menggunakan *colony counter* dengan satuan CFU/mL. Sebanyak dua koloni bakteri dipilih untuk diamati karakter makroskopisnya meliputi warna koloni, bentuk koloni, bentuk tepian koloni dan bentuk permukaan koloni.

Peremajaan Bakteri

Koloni bakteri terpilih kemudian diremajakan atau ditumbuhkan kembali ke dalam media baru berupa media *Nutrient Agar* miring menggunakan metode *streak zig-zag* dan diberi label yang kemudian disebut sebagai isolat bakteri.

Uji Pewarnaan Gram dan Pengamatan Karakter Mikroskopis

Isolat bakteri yang telah tumbuh kemudian diamati sifat gram bakterinya melalui uji pewarnaan gram menggunakan kristal violet, lugol, alkohol, dan

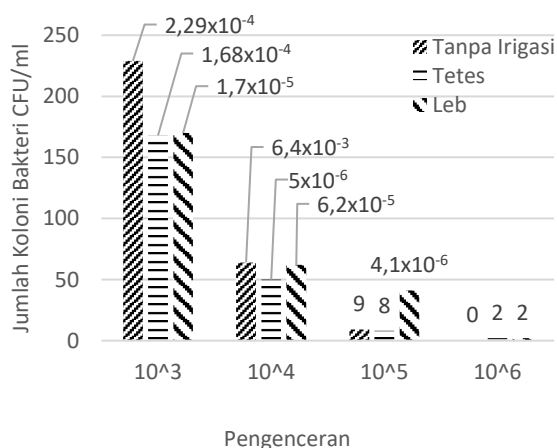
fuchsin. Bakteri diamati di bawah mikroskop cahaya perbesaran 1000 kali untuk mengetahui jenis gram bakteri dan bentuk sel bakteri.

Uji Pelarut Fosfat

Sebanyak satu ose isolat bakteri diinokulasikan ke dalam media Pikovskaya cair. Isolat dihomogenisasi menggunakan *shaker* selama 48 jam, kemudian diinokulasikan ke dalam media Pikovskaya padat yang telah tandai menjadi empat area menggunakan spidol di bagian bawah cawan petri. Inokulasi isolat dilakukan dengan meneteskan 1 tetes isolat dari media Pikovskaya cair ke masing-masing area yang telah terbagi pada media Pikovskaya padat. Isolat pada media Pikovskaya padat diinkubasi di dalam suhu ruang selama 72 jam. Isolat yang membentuk zona bening dihitung indeks kelarutan fosfatnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri dilakukan untuk memisahkan suatu jenis bakteri dari mikroorganisme lain dan ditumbuhkan di luar lingkungan asalnya agar didapatkan suatu koloni sel atau kultur bakteri murni. Isolasi bakteri diawali dengan metode pengenceran bertingkat untuk mengurangi jumlah mikroorganisme di dalam sampel tanah. Bakteri kemudian ditumbuhkan pada media agar hingga terbentuk koloni yang bersel tunggal untuk diamati dan diuji lebih lanjut [10].



Gambar 1 Jumlah koloni bakteri tiap pengenceran.

Perhitungan TPC dilakukan pada cawan petri yang memenuhi syarat perhitungan bakteri dengan metode TPC, yaitu jumlah koloni berkisar 25-250 koloni bakteri dalam cawan petri [11]. Jumlah koloni terbanyak dengan nilai CFU tertinggi pada masing-masing sampel terdapat pada pengenceran 10⁻³

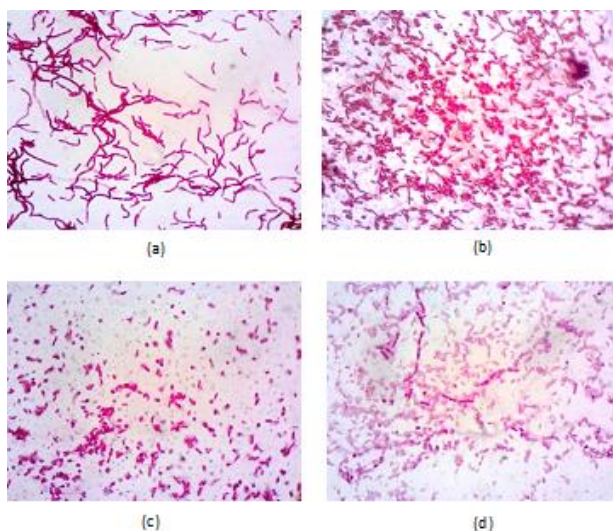
sampel tanah Tanpa Irigasi, yaitu 229 koloni atau $2,29 \times 10^{-4}$ CFU/ml; sampel tanah Irigasi Tetes, yaitu $1,68 \times 10^{-4}$ CFU/ml; dan sampel tanah Irigasi Leb, yaitu $1,7 \times 10^{-5}$ CFU/ml (Gambar 1). Berdasarkan tabel dan grafik, didapati bahwa jumlah koloni bakteri berbanding terbalik dengan tingkat pengenceran. Jumlah koloni bakteri semakin berkurang bersamaan dengan tingkat pengenceran yang tinggi. Jumlah koloni tersebar pada tiap sampel berdasar pada prinsip pengenceran, yaitu semakin tinggi faktor pengenceran maka semakin rendah jumlah koloni bakteri, dan semakin rendah faktor pengenceran, maka semakin tinggi jumlah bakteri [12].

Sebanyak 2 koloni dari masing-masing pengenceran diambil untuk diamati karakteristik makroskopis, sehingga terdapat 24 koloni yang teridentifikasi secara makroskopis. Koloni bakteri asal sampel tanah **Tanpa Irigasi** dengan bentuk koloni bulat/*circular*, elevasi datar/*flat*, tepian menyeluruh/*entire*, dan berwarna putih susu dimiliki oleh seluruh isolat kecuali isolat A5k1 yang memiliki bentuk koloni berfilamen/*filamentous*, elevasi datar/*flat*, tepian berfilamen/*filamentous*, dan berwarna kuning pucat. Koloni bakteri asal sampel tanah **Irigasi Tetes** seluruh isolat memiliki bentuk koloni bulat/*circular*, elevasi datar/*flat*, tepian menyeluruh/*entire*, dan berwarna. Koloni bakteri asal sampel tanah **Irigasi Leb** isolat L5k1, L5k2, L6k1 dan L6k2 memiliki bentuk koloni bulat/*circular*, elevasi datar/*flat*, tepian menyeluruh/*entire*, dan berwarna putih susu dimiliki. Isolat L3k1 asal sampel tanah Irigasi Leb memiliki bentuk koloni tidak beraturan/*irregular*, elevasi cembung/*convex*, tepian bergelombang/*undulate*, dan berwarna kuning pucat. Isolat L3k2 asal sampel tanah Irigasi Leb memiliki bentuk koloni bulat/*circular*, elevasi terangkat/*raised*, menyeluruh/*entire*, dan berwarna putih susu. Isolat L4k1 asal sampel tanah Irigasi Leb memiliki bentuk koloni tidak beraturan/*irregular*, elevasi datar/*flat*, mengkerut/*curled*, dan berwarna putih susu. Isolat L4k2 asal sampel tanah Irigasi Leb memiliki bentuk koloni tidak beraturan/*irregular*, elevasi cekung/*crateriform*, menyeluruh/*entire*, dan berwarna putih susu.

Koloni bakteri yang telah diamati karakteri makroskopisnya kemudian diremajakan ke media NA miring yang selanjutnya disebut sebagai isolat murni. Isolat bakteri mengalami pertumbuhan setelah 24 jam inkubasi kecuali bakteri pada isolat T6K1 dan T6K2 dari sampel tanah Irigasi Tetes, sehingga tersisa 22 isolat untuk uji lanjutan. Peremajaan bakteri dari medium lama ke medium

baru bertujuan untuk memperoleh budaya murni tanpa kontaminasi yang tidak diinginkan dan dapat dimanfaatkan untuk identifikasi morfologi, fisiologi, serologi, dan spesies mikroba tersebut [13].

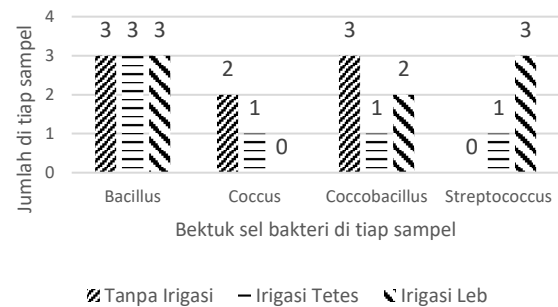
Hasil dari uji pewarnaan gram menunjukkan bahwa seluruh koloni bakteri memiliki warna kemerahan pada permukaan sel bakteri sehingga dapat dikatakan bahwa seluruh isolat yang teruji bersifat Gram-Negatif (Gambar 2). Dinding sel bakteri yang bersifat gram-negatif memiliki lapisan peptidoglycan lebih tipis serta lapisan luar membran mengandung lemak dan terpisah dari dinding sel. Pewarnaan gram bertujuan untuk membedakan bakteri menjadi dua jenis berdasarkan dinding sel dan permeabilitas dinding selnya, yaitu bakteri gram-positif dan bakteri gram-negatif. Prinsipnya, bakteri gram positif tidak mengalami dekolerasi dan cenderung akan mempertahankan warna dasar seperti kristal violet, sedangkan bakteri negatif akan kehilangan semua kristal violet dan menyerap noda dari fuschin [14].



Gambar 2. (a) Bakteri Bacillus; (b) Bakteri Coccobacilli; (c) Bakteri Coccus; (d) Bakteri Streptococci

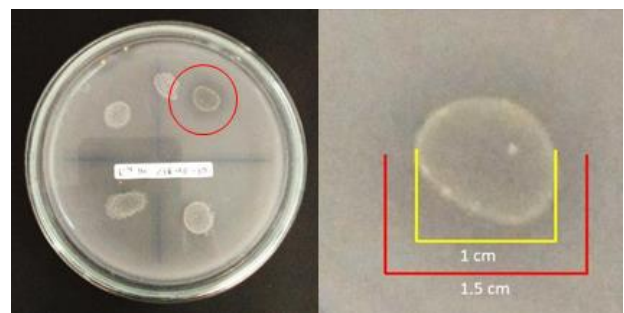
Hasil dari pengamatan morfologi bentuk sel bakteri memperlihatkan bahwa ketiga sampel tanah didominasi oleh bakteri Bacillus. Bakteri Bacillus dapat dijumpai di tiap sampel tanah dengan jumlah yang sama, yaitu 3 isolat bakteri. Bakteri Coccus hanya dapat dijumpai pada sampel tanah Tanpa Irigasi berjumlah 2 isolat dan tanah Irigasi Tetes berjumlah 1 isolat. Bakteri Coccobacilli paling banyak ditemui pada sampel tanah Tanpa Irigasi, yaitu sebanyak 3 isolat, juga terdapat pada sampel tanah Irigasi Tetes sebanyak 1 isolat dan sampel tanah Irigasi Leb sebanyak 2 isolat. Bakteri streptococci hanya dapat dijumpai pada sampel

tanah Irigasi Tetes sebanyak 1 isolat dan tanah Irigasi Leb sebanyak 3 isolat (Gambar 3).



Gambar 3 Jumlah bakteri pada tiap sampel berdasarkan bentuk sel.

Bakteri pelarut fosfat dapat ditandai dengan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar pertumbuhan koloni bakteri pada media Pikovskaya [15]. Sebanyak 22 isolat yang telah dieksplorasi pada media Pikovskaya, hanya satu isolat yang menghasilkan zona bening pada media Pikovskaya, yaitu isolat L4K1 dari sampel tanah Irigasi Leb. Isolat tersebut memiliki diameter koloni sebesar 1 cm dan diameter zona bening 1,5 cm, sehingga perbandingan antar diameter sebesar 1,5:1 dan indeks pelarut fosfat yang dimiliki isolat sebesar 250 (Gambar 4). Nilai indeks pelarut fosfat dari tiap isolat tidak dapat saling dibandingkan karena semua isolat tidak menunjukkan zona bening di sekitar pertumbuhan koloni setelah 72 jam inkubasi kecuali isolat L4K1.



Gambar 4. Isolat L4K1 dengan zona bening di sekitar pertumbuhan koloni.

Zona bening yang tidak terlihat pada 21 isolat lainnya setelah 72 jam inkubasi dalam penelitian ini belum dapat dipastikan bahwa bakteri tidak dapat melarutkan fosfat, namun bisa jadi disebabkan karena waktu inkubasi terlalu singkat, seperti umumnya bakteri Bacillus membutuhkan waktu 96 jam periode inkubasi agar dapat melarutkan fosfat dengan maksimal. Peneliti lain juga melaporkan butuh hingga 3 sampai 15 hari periode inkubasi bagi beberapa jenis bakteri untuk bisa melarutkan fosfat secara maksimal [16].

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil isolasi yang telah dilakukan, mayoritas koloni bakteri memiliki bentuk bulat/*circular*, permukaan datar/*flat*, tepian menyeluruh/*entire* dan berwarna putih susu. Seluruh isolat bakteri memiliki karakteristik berupa sifat gram negatif. Karakter pelarut fosfat dari uji pelarut fosfat hanya terlihat pada isolat L4K1 asal sampel tanah Irigasi Leb dengan IPF sebesar 250 serta ratio 1,5:1.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada Pusat Aplikasi Isotop dan Radiasi BATAN yang telah memfasilitasi penelitian ini, terutama kepada bpk. Sudono Slamet sebagai pendamping laboratorium selama penelitian berlangsung.

REFERENSI

- [1] D. Hermanto, S. Kamali, R. Kurnianingsih dan N. Ismillayli, "Optimalisasi lahan kering kecamatan Bayan-Lombok Utara menggunakan asam humat terimmobil dalam laut sebagai pelengkap pupuk pada tanaman Jagung (*Zea mays* L.)," *Sains Tanah - Jurnal Ilmu Tanah dan Agroklimatologi*, vol. 10, no. 2, pp. 101-112, 2013.
- [2] A. Muta'al, "Analisis waktu dan biaya irigasi pada sistem irigasi pipa leb di lahan kering, di dusun Aurngan Bali, desa Akar-akar, kecamatan Bayan, Lombok Utara," Universitas Mataram, Mataram, 2018.
- [3] H. Yanto, A. Tusi dan S. Triyono, "Aplikasi sistem irigasi tetes pada tanaman Kembang Kol (*Brassica oleracea* var. *Botrytis* L. subvar. *Cauliflora* DC) dalam greenhouse," *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, vol. 3, no. 2, pp. 141-152, 2014.
- [4] E. Yuswari, M. Kandır dan Oktafari, "Aplikasi sistem irigasi bawah tanah (sub-irrigation) dengan memanfaatkan limbah cair pabrik karet SIR 20 sebagai air irigasi pada pertumbuhan tanaman Tomat (*Lycopersicon esculantum* Mill)," *Jurnal Teknik Pertanian Lampung*, vol. 5, no. 1, pp. 25-34, 2016.
- [5] A. Sezen, O. Murat, K. Kubra dan A. Faruk, "Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) and their effects on improving growth of wheat," *Journal of Applied Biological Science*, vol. 10, no. 1, pp. 41-46, 2016.
- [6] P. Vejan, R. Abdullah, T. Khadiran, S. Ismail dan A. Boyce, "Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability - a review," *Molecules*, vol. 21, pp. 1-17, 2016.
- [7] R. Nasution, T. Sabrina dan Fauzi, "Pemanfaatan jamur pelarut fosfat dan mikoriza untuk meningkatkan ketersediaan dan serapan P tanaman Jagung pada tanah alkalin," *Jurnal Online Agroekoteknologi*, vol. 2, no. 3, pp. 1003-1010, 2014.
- [8] J. Sharon, L. Hathwaik, G. Glenn, S. Imam dan C. Lee, "Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth," *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, vol. 2, no. 16, pp. 525-536, 2016.
- [9] D. Elfiati, Delvian dan H. Hanum, "Indeks pelarutan fungi pelarut fosfat dengan menggunakan empat sumber fosfat," dalam *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*, Palembang, 2016.
- [10] R. Jufri, "Microbial isolation," *Journal La Lifesci*, vol. 1, no. 1, pp. 18-23, 2020.
- [11] F. Hartati, "Evaluasi metode pengujian angka lempeng total menggunakan metode petrifilm aerobic count plate terhadap metode uji SNI 01.2332.2006 pada produk perikanan di LPPMHP Surabaya," *Jurnal Teknik Industri HEURISTIC*, vol. 13, no. 2, pp. 89-105, 2016.
- [12] Sukmawati dan F. Hardianti, "Analisis total plate count (TPC) mikroba pada ikan asin kakap di kota Sorong Papua Barat," *Jurnal Biodjati*, vol. 3, no. 1, pp. 72-78, 2018.
- [13] R. Jufri, "Microbial isolation," *Journal La Lifesci*, vol. 1, no. 1, pp. 18-23, 2020.
- [14] N. Pukhrambang, "Comparasion of original gram stain and its modification in the gingival plaque samples," *Journal of Bacteriology & Mycology*, vol. 7, no. 1, pp. 1-3, 2019.
- [15] D. Elfiati, Delvian dan H. Hanum, "Indeks pelarutan fungi pelarut fosfat dengan menggunakan empat sumber fosfat," dalam *Prosiding Seminar Nasional Lahan Suboptimal*, Palembang, 2016.
- [16] D. Paul dan S. Sinha, "Isolation and characterization of phosphate solunbilizing bacterium *Pseudomonas aeruginosa* KUPSB12 with antibacterial potential from

river Ganga, India,” *Annals of Agrarian Science*, pp. 1-7, 2016.