

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI RHIZOSFER TANAMAN JAGUNG PADA FASE VEGETATIF DAN GENERATIF

(Isolation and Identification Bakteria from Corn rhizosfer on Vegetative and generative Phase)

Cici Nuraini*¹, Saida², Suryanti², Mimuna Nontji²

¹Mahasiswa Program Studi Agroteknologi Universitas Muslim Indonesia

²Dosen Program Studi Agroteknologi Universitas Muslim Indonesia

Email : ²saida.saida@umi.ac.id ²suriyanti.suriyanti@umi.ac.id

ABSTRACT

Rhizosphere of bacteria are a group of bacteria that called PGPR. The use of PGPR is very appropriate at this time because it is abundant and environmentally friendly. The aim of this research is to isolation and identification by macroscopic and microscopic for the rhizosphere bacteria from corn plants on vegetative and generative phase. The method is qualitative exploratory research to examine based on data analysis. identify and then give information. The results is successfully collecting 10 isolates, among others 5 isolates in the vegetative phase and 5 isolate in the generative phase . The number of colonies in the vegetative phase is 1,089 CFU / ml and the number of colonies in the generative phase is 1,332 CFU / ml. Base on Macroscopic identification obtained varies in the shape of colony, elevation and the edge of colony, although the colors are all the same ie white. Base on microscopic all the shape of bacteria was obtained coccous, except for isolat no. 2 is bacil for the vegetative phase. All isalat is gram negative.

Keyword: bakteria; rhizosfer; corn

PENDAHULUAN

Kelompok utama mikroba tanah meliputi bakteri, cendawan dan protozoa. Diantara ketiga mikroorganisme tersebut bakteri merupakan mikroba yang melimpah jumlahnya di dalam tanah. Setiap gram tanah diperkirakan terdapat 60.000 spesies yang berbeda dan jumlahnya mencapai milyaran sel bakteri. Kekayaan rhizosfer akan nutrisi yang bersumber dari eksudat tanaman, memungkinkan peningkatan populasi bakteri. Menurut Ferfi nia (2010), pada tanah di daerah *rhizosfer* memiliki jumlah bakteri, cendawan dan actinomycetes yang lebih banyak dibandingkan tanah tanpa sistem perakaran (tanpa *rhizosfer*).

Bakteri tanah, yang mendiami *rhizosfer* sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan tanaman. Bakteri mampu menunjang pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan

hormone pertumbuhan, mampu melarutkan fosfat, mengkelat siderofor dan sebagai biokontrol bakteri dan cendawan patogen tanaman. Bakteri *rhizosfer* demikian disebut sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) atau *Rhizobacter* pemicu pertumbuhan tanaman. Pemanfaatan PGPR saat ini sudah banyak dikembangkan karena keberadaannya melimpah di alam dan mudah diperoleh.

Salah satu komoditas pangan yang jumlahnya terus meningkat adalah tanaman jagung Tanaman ini menjadi salah satu sumber pangan pokok masyarakat Indonesia. Jagung menempati posisi penting dalam perekonomian nasional karena merupakan sumber karbohidrat (Akil dan Hadijah, 2011). Khususnya di Kabupaten Gowa, tanaman ini sangat mendominasi. Untuk meningkatkan produktivitasnya diperlukan upaya

pemanfaatan pupuk organik yang ramah lingkungan, mengingat kondisi tanah yang telah digunakan secara terus menerus, tentu saja akan mengalami degradasi. Berdasarkan kondisi tersebut maka perlu dilakukan penelitian tentang isolasi bakteri rhizosfer tanaman jagung dengan harapan akan diperoleh isolat yang berpotensi membantu tanaman dalam ketersediaan unsur hara. Tujuan penelitian ini yaitu untuk mengisolasi dan mengidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis bakteri *rhizosfer* tanaman jagung pada fase vegetatif dan generative.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain: erlenmeyer, cawan petri, kertas HVS, kapas, gelas ukur, bunsen, plastik wrap, timbangan, jarum ose, *autoklaf*, *Laminar Air Flow* (LAF), tabung reaksi, rak tabung reaksi, mortar, alu, tip, mikropipet, vortex, shaker, sendok, batang penyebar (*drigalsky*), mikroskop, dan alat tulis menulis.

Bahan yang digunakan adalah sampel tanah dari rizosfer tanaman jagung dari kabupaten Gowa, media *nutrient agar* (NA) dan aquades.

Metode Penelitian

Metode penelitian ini berupa penelitian eksplorasi kualitatif yaitu mengkaji berdasarkan identifikasi untuk kemudian melahirkan informasi yang dapat dimanfaatkan.

Pelaksanaan Penelitian

1. Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil dari perakaran tanaman jagung pada fase vegetatif berumur 30 hari setelah tanam (HST) dan

fase generatif umur 90 HST. Sampel diambil dengan cara akar tanaman digunting, lalu disimpan dalam plastik siap untuk dianalisis

2. Isolasi Bakteri Rizosfer

Sebelum dilakukan isolasi semua alat dan bahan yang digunakan disterilkan terlebih dahulu. Selanjutnya isolasi dilakukan dengan membuat seri pengenceran ($10^{-1} - 10^{-5}$) setiap seri diulang tiga kali baik pada fase vegetatif maupun pada fase generative. Proses isolasi dilakukan dengan cara memipet 0,1 ml larutan sampel tanah pada masing-masing seri pengenceran kedalam cawan petri yang berisi media *Nutrient agar* (NA), selanjutnya diinkubasi pada suhu 25 °C dan diamati pertumbuhan bakteri setiap hari. Pengamatan dilakukan selama 2 hari.

Koloni yang tumbuh pada media NA dihitung jumlah populasi bakterinya dengan satuan CFU (*colony forming unit*). Estimasi jumlah koloni dihitung berdasarkan formula Klement *et al* (2015) yaitu :

$$\text{Koloni per ml} = \text{Jumlah koloni percawan} \times 1/\text{faktor pengenceran (CFU/ mL)}$$

3. Proses Pemurnian

Pemurnian bakteri dilakukan dengan metode gores, semua koloni yang memiliki bentuk berbeda dimurnikan pada media NA untuk mendapatkan isolate murni. Isolat yang diperoleh kemudian digores berulang-ulang hingga diperoleh isolate tunggal. Selanjutnya dilakukan inkubasi pada suhu 25 °C dan diamati pertumbuhannya selama 2 hari .

4. Identifikasi Morfologi secara Makroskopis

Semua isolat tunggal yang berhasil dimurnikan, ditumbuhkan pada media NA

pada tabung reaksi dengan metode miring, kemudian dinkubasi selama \pm 1 minggu, selanjutnya diamati secara langsung morfologinya yaitu bentuk koloni, elevasi, tepi koloni dan warna koloni.

5. Identifikasi Bentuk dan Reaksi Gram secara Mikroskopis

Tahap pewarnaan gram dilakukan dengan mengoleskan isolat murni pada gelas objek yang telah dibersihkan menggunakan alkohol 70%. Kemudian difiksasi diatas api bunsen lalu ditetesi dengan cat gram A (kristal vioelt) sebanyak 2-3 tetes yang didiamkan selama 1 menit. Kemudian gelas objek dicuci dengan menggunakan air mengalir lalu dikeringkan. Sebanyak 2-3 tetes cat gram B (larutan lugol) ditetaskan diatas gelas objek dan dibiarkan selama 1 menit. Gelas ojek dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan. Gelas objek kembali ditetsi 2-3 cat gram C (alkohol-aseton) dan dibiarkan selama 30 detik lalu dicuci kembali dan dikeringanginkan. Selanjutnya gelas objek ditetesi dengan larutan cat gram D (larutan safranin) sebanyak 2-3 tetes dan didiamkan selama 30 detik, lalu dicuci dan dikeringanginkan. Selanjutnya diamati dibawah mikroskop dengan pebesaran 40 kali dan 100 kali.

Parameter Pengamatan

Parameter yang diamati adalah sebagai berikut :

1. Jumlah Koloni, diamati secara manual. Koloni yang tumbuh pada media NA dihitung jumlah populasi dengan satuan

CFU (*colony forming unit*). Estimasi jumlah koloni dihitung berdasarkan formula Klement *et al* (2015) yaitu :

Koloni per ml = Jumlah koloni percawan x 1/faktor pengenceran (CFU/ mL)

2. Bentuk Koloni, diamati baik secara langsung maupun dengan menggunakan mikroskop. Secara langsung dengan malihat pertumbuhan koloni diatas permukaan agar, dapat berupa *rhizoid*, *circular* atau *irregular* (Cappucino dan Sherman, 2002). Secara mikroskopis menggunakan mikroskop pembesaran 40 kali.
3. Elevasi, adalah derajat pertumbuhan bakteri diatas permukaan agar, diamati dengan cara mengangkat cawan petri sejajar dengan mata pengamat, lalu mengidentifikasi apakah pertumbuhan rata, tebal, cembung atau bergelombang.
4. Tepi Koloni, diamati dengan melihat setiap pinggiran koloni pada permukaan media agar, pertumbuhan tepi koloni dapat berlekuk, rata, bergelombang atau bergerigi.
5. Warna, diamati dengan melihat warna koloni setelah diinkubasi selama \pm 1 minggu.
6. Reaksi Gram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Jumlah Koloni dan jumlah isolate

Jumlah koloni yang diperoleh dari *rhizosfer* tanaman jagung fase vegetatif dan generatif pada setiap seri pengenceran 24 jam setelah inkubasi (JSI) dan 48 JSI disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah koloni bakteri fase vegetatif dan generatif pada setiap pengenceran (CFU/ml)

No	Fase Pengambilan Sampel	Jumlah Koloni Pada Seri Pengenceran CFU/ml				
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵
1	Vegetatif	1.089	992	728	312	250
2	Generatif	1.332	664	406	636	390

Keterangan: CFU = *colony forming unit*

Pada Tabel 1, terlihat bahwa jumlah koloni tertinggi fase vegetative diperoleh pada pengenceran 10⁻¹ yaitu 1.089 CFU/ml. Sementara yang terendah pada pengenceran 10⁻⁵ yaitu 250 CFU/ml. Demikian juga pada fase generative, jumlah koloni tertinggi diperoleh pada pengenceran 10⁻¹ yaitu 1.332 CFU/ml dan terendah pada pengenceran 10⁻⁵. Hal tersebut sangat beralasan karena pada pengenceran 10⁻¹ adalah awal pengenceran, dimana konsentrasi suspensi larutan tanah masih sangat tinggi, ini berarti bahwa populasi bakteri juga masih sangat tinggi. Selanjutnya cenderung berkurang dengan meningkatnya pengenceran.

Jumlah koloni pada fase generative (1.332 CFU/ml) cenderung lebih tinggi dibanding pada fase vegetative (1.089) dengan seri pengenceran yang sama. Hal tersebut dapat disebabkan karena kemampuan beradaptasi setiap isolate berbeda tergantung ketersediaan nutrisi dan kemampuan berkompetisi antar isolate.

Jumlah isolat yang berhasil diisolasi dan dimurnikan pada fase vegetatif setiap pengenceran adalah 5 isolat, masing –masing diberi kode sesuai seri pengencerannya yaitu:

1. Isolat kode no.1 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻¹
2. Isolat kode no.2 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻²
3. Isolat kode no.3 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻³

4. Isolat kode no.4 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻⁴

5. Isolat kode no.5 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻⁵

Demikian juga isolat pada fase generatif, jumlah isolate yang berhasil dimurnikan adalah 5 isolat pada setiap seri pengenceran yang diberi nama sesuai seri pengencerannya yaitu:

1. Isolat kode no.1 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻¹
2. Isolat kode no.2 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻²
3. Isolat kode no.3 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻³
4. Isolat kode no.4 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻⁴
5. Isolat kode no.5 adalah isolat yang diperoleh pada seri pengenceran 10⁻⁵

2. Identifikasi Morfologi secara Makroskopis

Hasil identifikasi secara makroskopis terhadap semua sampel dapat dilihat pada tabel 2. Pada isolat fase vegetatif diperoleh 3 isolat dengan bentuk koloni *circular* atau pinggir koloni rata yaitu isolat no.1,3 dan 4; sementara isolate no.2 berbentuk *rhizoid*. Sedangkan isolat fase generative diperoleh bentuk koloni *irregular* atau koloni berlekuk pada isolate no.1 dan rhizoid pada isolate no.5, yang lain adalah *circular*.

Tabel 2. Hasil identifikasi morfologi secara makroskopis isolate fase vegetative dan generatif

Fase Pengambilan Sampel	Kode Isolat	Bentuk Koloni	Elevasi	Tepi Koloni	Warna Koloni
Vegetatif	No.1	Circular	Cembung	Rata	Putih
	No.2	Rhizoid	Rata	Bergelombang	Putih
	No.3	Circular	Timbul	Rata	Putih
	No.4	Circular	Cembung	Rata	Putih
Generatif	No.1	Iregular	Cembung	Rata	Putih
	No.3	Cirkular	Rata	Rata	Putih
	No.4	Cirkular	Cembung	Rata	Putih
	No.5	Rhizoid	Rata	Bergerigi	Putih

Elevasi adalah derajat kenaikan pertumbuhan koloni diatas permukaan agar, elevasi ini diamati dengan melihat pertumbuhan koloni dari sisi cawan petri. Berdasarkan hasil pengamatan pada isolate fase vegetatif diperoleh elevasi cembung atau pertumbuhan koloni seperti menggunung diatas permukaan media pada isolat no. 1 dan 4, sementara isolat no.2 rata dan no.3 timbul. Sedangkan pada isolate fase generative diperoleh 2 isolat elevasi cembung yaitu isolat no.1 dan no.4 sementara yang lain elevasi rata atau pertumbuhan koloni datar di atas permukaan media. Isolat no.5 fase vegetative dan no.2 fase generative tidak dapat diidentifikasi karena terjadi kontaminasi.

Tepi koloni diamati dengan melihat pertumbuhan pada pinggir koloni. Pada umumnya tepi koloni terlihat rata, baik pada isolat fase vegetatif maupun generatif, kecuali pada isolate no.2 fase vegetatif tepi koloni terlihat bergelombang dan isolat no.5 fase generative terlihat bergerigi. Warna koloni pada semua sampel isolate terlihat berwarna putih. Bakteri yang tidak memiliki *chromogene* memperlihatkan pertumbuhan berwarna putih, sedangkan bakteri yang memiliki *chromogene* memperlihatkan perbedaan warna. Beberapa bakteri

menghasilkan pigmen yang dapat larut dan berdifusi ke medium sehingga medium berubah warna (Benson, 2001).

Pengamatan makroskopis sangat bersifat subyektif, karena kemampuan setiap pengamat sangat bergantung pada kualitas penglihatan. Selain itu bentuk morfologi setiap isolate sangat bergantung pada karakter dan spesies setiap isolat. Pengamatan tentang karakteristik morfologi koloni bakteri perlu dilakukan, agar mempermudah dalam proses identifikasi jenis bakteri. Hal ini sesuai dengan pernyataan Lay (1994), bahwa berdasarkan ciri morfologi koloni bakteri dan biakan murni maka dapat dilakukan proses identifikasi jenis-jenis mikroorganisme, namun untuk memperoleh hasil identifikasi yang sempurna maka harus dilanjutkan dengan uji biokimia.

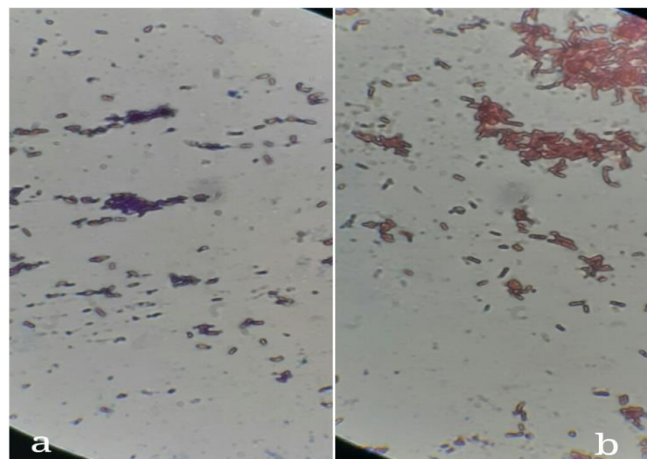
3. Identifikasi Pewarnaan Gram dan Bentuk secara Mikroskopis

Hasil identifikasi berdasarkan pewarnaan gram dan pengamatan bentuk dibawah mikroskop dapat dilihat pada tabel 3. Semua isolate termasuk gram negatif dan bentuk isolat pada umumnya *coccus*, hanya satu berbentuk *bacil* yaitu isolat fase vegetatif dengan kode isolat no.2. Bakteri tanah yang paling sering dijumpai berbentuk *coccus*,

basil, spiral (Bhagabati et al. 2004). Bentuk bakteri pada pembesaran 40x dapat dilihat pada Gambar 1.

Tabel 3. Hasil Identifikasi berdasarkan pewarnaan gram dan bentuk secara mikroskopis isolate fase vegetatif dan generatif

Fase Pengambilan Sampel	Seri Pengenceran	Warna Perlakuan gram	Bentuk	Gram
Vegetatif	-1	Merah	Coccus	Negatif
	-2	Merah	Bacil	Negatif
	-3	Merah	Coccus	Negatif
	-4	Merah	Coccus	Negatif
	-5	Merah	Coccus	Negatif
Generatif	-1	Merah	Coccus	Negatif
	-2	Merah	Coccus	Negatif
	-3	Merah	Coccus	Negatif
	-4	Merah	Coccus	Negatif
	-5	Merah	Coccus	Negatif



Gambar 1. .Bentuk bakteri pada pembesaran 40x
a) bentuk *Bacillus*, b) bentuk *Coccus*.

Untuk mengetahui bentuk sel bakteri dibawah mikroskop serta untuk membedakan bakteri gram positif dan gram negative perlu dilakukan uji pewarnaan gram. Lay (1994) menyatakan bahwa bakteri gram positif pada pewarnaan Gram berwarna ungu , sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah . Perbedaan bentuk dan warna tersebut pada

bakteri gram positif dan negatif menunjukkan bahwa adanya perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri tersebut. Bakteri gram positif memiliki kandungan struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki struktur dinding sel dengan

kandungan lipid yang tinggi (Fitri & Yasmin, 2011).

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Hasil isolasi sampel *rhizosfer* tanaman jagung diperoleh 10 isolat, masing-masing 5 isolat bakteri pada fase vegetatif dan 5 isolat bakteri fase generative.
2. Jumlah koloni hasil isolasi rhizosfer tanaman jagung pada fase vegetatif yaitu 1.089 CFU/ml dan jumlah koloni pada fase generatif yaitu 1.332 CFU/ml.
3. Identifikasi morfologi secara makroskopis diperoleh bentuk koloni, elevasi dan tepi koloni yang bervariasi pada kedua sampel rhizosfer fase pertumbuhan tanaman jagung, meskipun warna semua sama yaitu berwarna putih.
4. Bentuk isolat secara mikroskopis diperoleh pada umumnya adalah *coccus*, kecuali isolat no.2 fase vegetative berbentuk *bacil*. Semua isolat adalah gram negative.

DAFTAR PUSTAKA

Akil dan Hadijah A.D., 2007, Budidaya Jagung dan Desiminasi Teknologi. JAGUNG, Teknk Produksi dan Pengembangan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian Tanaman Pangan.

Benson. 2001. Microbiological applications laboratory manual in general

microbiology. 8th ed. The McGraw-Hill Companies, New York

- Bhagabati, A., T. Dillar, N. Grisel, G. Sladic Radez and against others., 2004, *Micrococcus roseus* was also proved to Mandic Mule. The influence of *Bacillus* have antibacterial activity only against *Shigella* spp. substilis protein Degu, sin R and sin IR on *Enterobacter aerogene* and *Bacillus alvei* shows clear biosynthensis in *Bacillus licheinformis*. Biotechniske zone of inhibition against *Pseudomonas* spp but the falk. V. Iybijani, Knetistro, 200 Technics, Vol 72., hal 37-42.
- Cappuccino, J. G, N. Sherman., 2002, *Microbiology a laboratory manual*. 6thed. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc, Menlo Park
- Ferfi nia A, 2010, Eksplorasi bakteri dan cendawan rizofer yang berasosiasi dengan penyakit busuk basah pada batang pepaya (*Carica papaya*) di Pasir Kuda, Desa Ciomas, Bogor, Skripsi, Departemen Pertanian Fakultas Pertanian IPB, Bogor
- Klement, Z, Rudolph, K, Sands D.C., 2015, *Methods in Phytobacteriology*. Abe Books. Sands D.C
- Lay, W. B., 1994, *Analisis Mikroba di Laboratorium*. PT Raja Grafindo Persada, Jakarta
- Reid G, Wong P., 2005, *Soil Bacteria Basic*. Department of Primary Industries. State of New South Wales.