

## **IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI ISOLAT *Rhizobacteri indigenus* MERAPI BERSIFAT OSMOTOLERAN**

*Agung Astuti, Sarjiyah, Hariyono*  
*Prodi Agroteknologi Universitas Muhammadiyah*

### ***Abstract***

*Rhizobacteri indigenus Merapi isolates have been detected, and MA, MB, and MD isolate could withstand osmotic stress up to >2.75 M NaCl. MD isolate was stronger in dissolving Phospate than MA and MB isolate, but MA and MB isolate had much stronger Nitrification capability and could perform ammonification than MD isolate. This research studied about Rhizobacteri Indigenus Merapi isolate as identification, as well as characterization. Results show that there is a difference in colonial characteristic of four Rhizobacteri indigenus Merapi isolate where MB and MC isolate (white Circular-Entire shape), except for MA isolate (Curled-white with Undulate edge) and MC isolate (Ramose-yellow with Filamentous edge) and also that MD isolate have the biggest diameter (1,5 mm). Cell characteristics, however, were the same, gram-negative and were rod shaped, except for MD isolate (coccus). All showed aerob and fermentative characteristic, although MD isolate very strongly hydrolyze starchs. The growth type is fast growing which reach log phase for 48 hours and then the number of colony decrease.*

*Key word : Rhizobacteri, identification and characterization*

### **PENDAHULUAN**

Peristiwa erupsi Merapi pada akhir bulan November 2011 di Daerah Istimewa Yogyakarta berdampak pada rusaknya ratusan hektar lahan pertanian. Hampir sebagian besar lahan yang berada di sekitar gunung Merapi terkena material vulkanik yang menyebabkan semua tanaman menjadi mati. Hal ini tentu sangat berpengaruh terhadap perkembangan mikroorganisme yang ada di dalam tanah disekitar gunung Merapi. Menurut Abdullah (2011) Lahar dan awan panas dapat menyebabkan kerusakan ekosistem mikroorganisme tanah. Mikroorganisme tanah dapat musnah saat lahan tertutup lava pijar yang sangat panas. Namun ternyata kondisi pasca erupsi Merapi masih terdapat sebagian tanaman yang mampu hidup sebagai tanaman *pioneer*. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa, antara lain karena adanya dukungan mikrobial di dalam tanah.

Salah satu faktor yang berperan penting dalam pertumbuhan sebagian besar tanaman tersebut ialah adanya mikroorganisme dalam tanah yang memiliki kemampuan untuk mengembalikan kesuburan tanah sehingga tanaman masih

mampu untuk tumbuh dan berkembang. Salah satu mikrobia dalam tanah yang memiliki kemampuan untuk mengembalikan kesuburan tanah yaitu *Rhizobacteri indigenous*. Mikroorganisme ini sudah terbukti dalam beberapa penelitian memiliki kemampuan untuk meningkatkan bahkan mempertahankan kesuburan tanah. Hasil penelitian Agung\_Astuti (2012) memperoleh empat isolat dari akar rumput di lahan pasir vulkanik Merapi, yaitu isolat MA, MB dan MD. Isolat tersebut tahan terhadap cekaman osmotik hingga  $> 2,75$  M NaCl, sedang isolat MC  $< 0,5$  M NaCl. Isolat MD lebih kuat kemampuan melarutkan Phosphat, dibanding dengan isolat MA dan MB, sedangkan isolat MC sangat rendah. Semua isolat tidak mampu memfiksasi Nitrogen, namun isolat MA dan MB kemampuan Nitrifikasinya sangat kuat dan mampu Amonifikasi daripada isolat MD dan isolat MC (Agung\_Astuti dkk, 2013).

Mengingat potensi isolat tersebut untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati maka untuk selanjutnya isolat disebut sebagai *Rhizobacteri indigenous* Merapi. Adapun permasalahannya adalah *species* apakah *Rhizobacteri indigenous* yang ada di lahan pasir vulkanik Merapi. Untuk itu perlu dilakukan karakterisasi baik ditingkat koloni, sel, sifat fisiologis dan kurve pertumbuhannya, sesuai dengan manual pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi *Rhizobacteri indigenous* Merapi.

## METODE PENELITIAN

**Bahan** yang digunakan adalah *Rhizobacteri indigenous* Merapi isolat MA, MB, MC, MD, medium Nutrien Agar, Luriar Bertani+ NaCl, medium Pati cair, medium Sukrosa, medium Glukosa.

**Alat** yang digunakan adalah untuk Sterilisasi (*Outoklaf*, oven, *Erlemeyer*, gelas piala), tahap isolasi dan pemurnian (lampu alkohol, lumpang dan martir, tabung reaksi, jarum ose, *petridish*, pipet ukur, *driglasky*, *skalpel*, pinset, mikro pipet, *blue* dan *yellow tip*), alat analisis (*Starquad colony counter*, timbangan elektrik, mikroskop).

**Metode Percobaan.** Penelitian Laboratorium dengan melakukan eksperimen yang menggunakan metode Deskriptif, meliputi dua tahap yaitu karakterisasi dan penentuan kurve pertumbuhan.

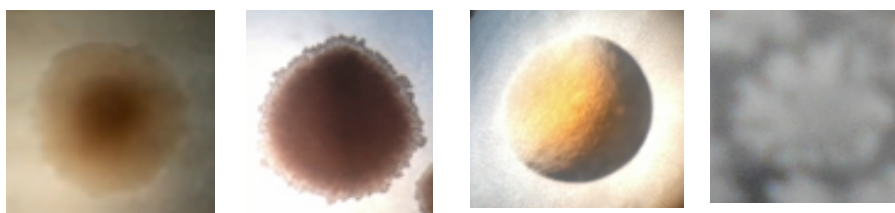
Tahap I adalah Karakterisasi koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi dengan metode *surface plating* pada medium LB+NaCl. Karakterisasi sel dengan pengecatan gram dari isolat yang ditumbuhkan pada medium LB. Sifat fermentatif dengan inokulasi pada medium pati cair, Sukrosa, Glukosa dalam tabung durham. Aerobisitas dengan inokulasi pada medium LB dalam tabung reaksi.

Tahap II adalah penentuan kurve pertumbuhan isolat dengan inokulasi *surface plating* pada medium LB+NaCl dan jumlah mikroba dihitung pada hari ke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Isolasi dan pemurnian isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi

Untuk mendapatkan isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi yang murni maka dilakukan pemisahan dari lingkungan sekitarnya dengan metode permukaan (*surface plating method*) dan menumbuhkannya sebagai biakan murni menggunakan metode goresan (*streak plating method*) (Jutono dkk., 1980). *Plating* awal yang berasal dari sumber, menghasilkan 8 jenis isolat berbeda berdasarkan bentuk dan warnanya (Agung\_Astuti, 2010), yang selanjutnya dilakukan *re-plating*. Hasil yang diperoleh, terdapat beberapa jenis koloni yang masih sama bentuk, warna dan ukurannya sehingga pada *re-plating* kedua diperoleh 4 isolat *Rhizobacteri indigenous*. yang berbeda bentuk, warna, ukurannya, yaitu isolat MA, MB, MC dan MD. Visualisasi isolat pada gambar 1 sedang karakter warna dan diameter koloni pada tabel 1.



( a ) Putih serabut ( b ) Putih ( c ) Kuning ( d ) Putih krem

Gambar 1. Koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi MA, MB, MC dan MD

Tabel 1. Warna & Diameter Koloni Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Warna	Putih serabut	Putih	Kuning	Putih krem
diameter	0,1 cm	0,2 cm	0,1 cm	1,5 cm

Warna koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi berwarna putih-krem dan kuning, dengan diameter koloni berkisar antara 0,1 -0,2 cm. Sedang menurut Holt *et al.* (1994) warna *Rhizobacteri* adalah putih atau putih kekuningan pada medium DYPG dengan ukuran sel 0,9-1,3 x 2,1-2,5 um.

Mikrobia hasil isolasi yang telah tumbuh sebagai koloni tunggal, selanjutnya dilakukan pemurnian dan di-identifikasi menurut karakterisasi bentuk koloni, diameter koloni, elevasi, bentuk tepi, struktur dalam, warna dan karakterisasi bentuk sel serta sifat gram.

#### b. Identifikasi Koloni dan Sel *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Determinasi meliputi kegiatan identifikasi dan klasifikasi. Kriteria yang biasanya digunakan dalam mengklasifikasikan bakteri adalah : (1) Karakteristik morfologi meliputi karakteristik sel vegetatif dan sel reproduktif vegetatif (spora), (2) Karakteristik kultur yaitu pertumbuhan medium cair (aerobisitas) dan medium padat (bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi dan struktur dalam), (3) Sifat gram positif atau gram negatif (Pelczar *et al*, 2001). Hasil karakterisasi koloni dan sel isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi Koloni dan Sel Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk koloni	<i>Curler</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Ramuse</i>
Bentuk tepi	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Filamentous</i>
Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Law Convex</i>	<i>Law Convex</i>	<i>Convex rugose</i>
Struktur dalam	<i>Transparant</i>	<i>Coarsely granular</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Arborescent</i>

Hasil identifikasi diperoleh bentuk koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi adalah *Circular*, *Curler* dan *Ramuse*, dengan bentuk tepi *Entire*, *Undulate*, *Filamentous*. Menurut Holt *et al.* (1994) secara umum *Rhizobacteri* berbentuk datar (*flat*) sampai cembung (*convex*) dan kerucut (*umbonate*). Hal ini sesuai dengan koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang bentuk elevasinya *Convex (law-Rugose)*.

Tabel 3. Karakterisasi Sel Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	<i>Coccus</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Karakterisasi sel *Rhizobacteri* adalah bakteri gram negatif dengan bentuk batang (*rods*) (Holt *et al.*, 1994). Hal tersebut sesuai dengan sifat gram isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yaitu gram negatif, dengan bentuk batang dan batang pendek.

### c. Karakterisasi fisiologi Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakteristik fisiologi dilakukan dengan pengujian biokimia seperti penggunaan senyawa karbon sebagai fermentatif dan pengujian biokimia khusus lainnya (Pelczar *et al.*, 2001). Hasil pengujian sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada tabel 4.

Tabel 4. Sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

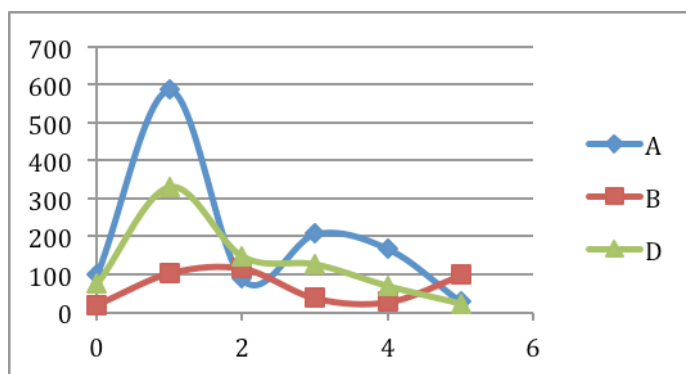
Pengujian		MA	MB	MC	MD
Aerobisitas		Aerob	Aerob	Aerob	Aerob
Sukrosa	Asam	3+	1+	2+	1+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Glukosa	Asam	2+	1+	1+	2+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Amilum	Hidrolisis	4+	1+	2+	3+

Sifat fisiologi dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi semua bersifat aerob yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan dipermukaan medium LBC pada tabung reaksi. Hal tersebut sesuai dengan sifat *Rhizobacteri* pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) yaitu menghasilkan asam dari glukosa dan menghidrolisis pati, tampak bahwa isolat MA bersifat sangat kuat.

### d. Kurve Pertumbuhan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Optimasi inokulum dilakukan untuk mengetahui tipe pertumbuhan isolat dan mengoptimalkan jumlah bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada inokulum yang akan dire-inokulasikan pada tanaman agar jumlah *Rhizobacteri indigenus*

Merapi dapat mencukupi dalam menginfeksi akar yang optimal. Syarat untuk dapat menghasilkan inokulum yang optimal untuk *Rhizobacteri indigenus*. adalah  $10^8 - 10^9$  CFU/ml (Elkan, 1987). Untuk mencapai jumlah sel yang memenuhi maka dilakukan kultur gojog selama 144 jam dan dilakukan perhitungan jumlah sel dengan metode *plating* setiap 24 jam. Rerata jumlah sel dari 4 isolat dapat dilihat pada gambar 3 .



Gambar 2. Pertumbuhan Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi (x 10<sup>7</sup> cfu/ml)  
Keterangan : A (MA), B (isolat MB), D (isolat MD)

Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa pada kultur gojog 48 jam pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi sudah optimal. Pada masa tersebut bakteri dalam fase akhir *log* yaitu pertumbuhan dengan peningkatan secara eksponensial berlangsung sangat cepat, meskipun setiap isolat berbeda – beda, diduga dipengaruhi oleh tipe pertumbuhan masing – masing isolat. Sedang pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi baru mulai fase penurunan setelah 48 jam dan jumlah bakteri terus menurun sampai waktu 72 jam.

## KESIMPULAN

1. Karakteristik koloni dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi ada perbedaan yaitu isolat Mb dan MC berbentuk koloni *Circular-Entire* dan berwarna putih kecuali isolat MA (*Curled*-putih dengan tepi *Undulate*) dan isolat MC (*Ramose*-kuning dengan tepi *Filamentous*) serta diameter koloni isolat MD paling besar (1,5 mm). Sedang karakteristik

selnya mempunyai kesamaan sifat gram (negatif) dan bentuk (batang) kecuali isolat MD (*Coccus*).

2. Sifat fisiologi dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi semua bersifat aerob dan fermentatif, namun isolat MD sangat kuat karena dapat menghidrolisis pati.
3. Kurve pertumbuhan dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi mencapai fase *log* sampai 48 jam kemudian terjadi penurunan koloni.

#### **SARAN**

Mengingat ke empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi banyak persamaannya, namun mempunyai perbedaan yang besar dalam fungsi sebagai pupuk hayati maka perlu dilakukan identifikasi sampai tingkat molekular melalui amplifikasi PCR dan analisis 16sDNA *Squensing*.

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Abdullah Abas Idjudin, Dedy Erfandi dan S, Sutono. 2011. Teknologi Peningkatan Produktivitas Lahan Endapan Vulkanik Pasca Erupsi G. Merapi.  
[http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/lainnya/Teknologi%20Peningkatan%20Prod%20Lhn%20Endpn%20Volk%20Pasca%20Erupsi%20OG%20Merapi%20\\_Pa%20Abas.pdf](http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/lainnya/Teknologi%20Peningkatan%20Prod%20Lhn%20Endpn%20Volk%20Pasca%20Erupsi%20OG%20Merapi%20_Pa%20Abas.pdf). Akses 23 Maret
- Agung\_Astuti. 2012. Isolasi *Rhizobacteri Indigenus* Lahan Pasir Vulkanik Merapi Yang Tahan Terhadap Cekaman Kekeringan. *Disampaikan pada seminar ilmiah di Fakultas Pertanian UMY pada 24 Nopember 2012*
- Agung\_Astuti, Sarjiyah dan Hariyono. 2013. Uji Potensi *Rhizobacteri Indigenus* Lahan Pasir Vulkanik Merapi Untuk Dikembangkan Sebagai Pupuk Hayati Di Lahan Marginal, *Dalam* Prosiding Seminar Nasional Pemanfaatan Lahan Marginal Sumberdaya Lokal untuk Mendukung Ketahanan Pangan Lokal, HITI & UNSOED Purwokerto, 8 Juni 2013.
- Brock, 1997. *Biology of Microorganisms*. Southern Illinois University-carbondale. Prentice Hall International, Inc.
- Elkan, 1987. Determinative Bacteria : *Bergey's Manual*.
- Hartmann, A., Prabhu, S.R., and Galinski, E.A. 1991. Osmotolerance of diazotrophic rhizosphere bacteria. *Plant and Soil* **137**:105-109.

- Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar – dasar Mikrobiologi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.
- Sutariati, G.A.K dan A. Wahab. 2006. Isolasi dan Uji Kemampuan Rizobacteri Indigenous sebagai agensia Pengendali hayati penyakit pada tanaman cabai. Fakultas Pertanian Universitas Haluoleo dan Tridharma Anduonohu, Kemdari, Sulawesi tenggara. [http://hortikukltura/litbang.deptan.go.id/jurnal\\_pdf/201/sutartati.cabai.pdf](http://hortikukltura/litbang.deptan.go.id/jurnal_pdf/201/sutartati.cabai.pdf). Akses 15 Maret 2011
- Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, R.C. Boro, M.R. Khan. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soil of assam. *Current Sci* 86: 978-985
- Thuar, A.M., C.A. Olmedo. C. Bellone.2004. Green House studies on growth promotion of maize inoculated with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/thuar.pdf>. Akses 23 Maret 2011
- Wei, G., J.W. Kloepper, S, S. Tuzun. 1996. Induced of systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth promoting rhizobacteria under fieldnconditions. *Phytopathol* 86:221-224