



## ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI TANAH SAWAH DI DESA SUKAWALI DAN DESA BELIMBING, KABUPATEN TANGERANG

### ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF RICE FIELD SOIL BACTERIA IN SUKAWALI VILLAGE AND BELIMBING VILLAGE, TANGERANG REGENCY

Arief Pambudi\*, Susanti, Taufiq Wisnu Priambodo

Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Al Azhar Indonesia,  
Kompleks Masjid Agung Al Azhar, Jl. Sisingamangaraja, Kebayoran Baru Jakarta Selatan 12110, Indonesia.  
Telp/fax (021)72792753/ (021)7244767

\*Corresponding author: pambudi@uai.ac.id

Naskah Diterima: 17 Februari 2017; Direvisi: 20 Juni 2017; Disetujui: 06 Juli 2017

#### Abstrak

Penggunaan pupuk kimia secara berlebih dapat menyebabkan kerusakan tanah dan menyebabkan ekosistem yang ada didalamnya terganggu. *Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) adalah bakteri yang hidup di daerah rizosfer tanaman yang dapat berperan sebagai biofertilizer, biostimulan dan bioprotektan. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh dan mengetahui karakteristik bakteri tanah yang berasal dari dua area persawahan, lokasi pertama di Desa Sukawali (TGR 1) dan lokasi kedua di Desa Belimbing (TGR 2), Kabupaten Tangerang. Penelitian dilakukan dengan mengambil sampel tanah, kemudian sampel dikultur dalam media agar nutrisi dengan pengenceran bertingkat. Total bakteri dihitung dan isolat yang diperoleh diuji kemampuan dan karakternya dalam menambat nitrogen (BPN), melarutkan fosfat (BPF), menghasilkan *indole acetic acid* (IAA), menghasilkan *Hidrogen Cyanide* (HCN), aktivitas katalase, jenis Gram dan karakter motilitas. Total bakteri yang dapat tumbuh dari kedua lokasi sebanyak  $2,4 \times 10^6$  CFU/g dan  $1,8 \times 10^6$  CFU/g. Kedua lokasi diperoleh total 45 isolat dengan seluruhnya positif BPN, 42 isolat positif BPF, 24 isolat menghasilkan IAA, 27 isolat menghasilkan HCN, 43 isolat katalase positif, 39 isolat Gram positif, 6 isolat Gram negatif, serta 41 isolat motil. Berdasarkan uji yang dilakukan, terdapat 16 isolat yang berpotensi sebagai pupuk hayati.

**Kata kunci:** Bakteri tanah; Rizosfer sawah; PGPR; Pupuk hayati

#### Abstract

*Excessive use of chemical fertilizer may cause soil damage and disturb the ecosystem. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) is a consortium bacteria that live in plant rhizosphere which acts as biofertilizer, biostimulant, and bioprotectant. The objective of this research is to isolate and investigate the characteristics of soil bacteria originating from two rice fields in Sukawali Village (TGR 1) and Belimbing Village (TGR 2), Tangerang Regency. The research was conducted by collecting soil samples and then culturing the bacteria onto nutrient agar medium with serial dilution. The total bacteria were calculated and the isolates obtained were examined for their ability and characteristics on nitrogen-fixation, phosphate solubilization, IAA production, HCN production, catalase activity, Gram assay, and motility. The total plate count from both TGR 1 and TGR 2 were  $2.4 \times 10^6$  CFU/g and  $1.8 \times 10^6$  CFU/g, respectively. From these locations 45 isolates obtained were positive nitrogen-fixer, 42 isolates were phosphate solubilizer, 24 isolates were IAA producer, 27 isolates were HCN producer, 43 isolates were catalase positive, 39 isolates were Gram-positive, 6 isolates were Gram-negative, and 41 isolates were motile. On the whole results, it was concluded that there were 16 isolates that could potential as biofertilizer.*

**Keywords:** Biofertilizer; PGPR; Rice field rhizosphere; Soil bacteria

**Permalink/DOI:** <http://dx.doi.org/10.15408/kauniyah.v10i2.4907>

## PENDAHULUAN

Padi (*Oryza sativa*) merupakan tanaman yang dijadikan salah satu makanan pokok di Indonesia. Jumlah penduduk yang bertambah di Indonesia sebanyak 2% setiap tahunnya menyebabkan kebutuhan beras terus bertambah. Indonesia merupakan negara terbesar ketiga yang memproduksi beras setiap tahunnya setelah China dan India, yaitu sebanyak 75,36 juta ton dengan konsumsi per kapita sebesar 140 kg/orang/tahun (Van der Schaar, 2016). Namun, saat ini Indonesia masih mengimpor beras dari negara lain karena produksi padi domestik tidak dapat mencukupi kebutuhan masyarakat Indonesia (BPS, 2016). Sekitar 90% lahan pertanian padi juga merupakan pertanian rakyat dengan rata-rata luasan lahan kurang dari 0,8 Ha dan masih dikelola secara tradisional sehingga biaya produksi cukup tinggi.

Salah satu penyebab tingginya biaya produksi adalah konsumsi penggunaan pupuk kimia. Kebanyakan petani menggunakan pupuk kimia untuk mendapatkan hasil panen yang bagus, tanpa memikirkan efek jangka panjang. Aplikasi pupuk kimia memang mampu meningkatkan produksi, namun penggunaan dalam jangka panjang, selain meningkatkan biaya produksi juga dapat mempengaruhi kondisi tanah. Perubahan kondisi tanah akibat aplikasi pupuk kimia berlebih dapat menyebabkan penurunan kualitas tanah dalam jangka waktu yang panjang. Eksploitasi lahan secara terus menerus menyebabkan kerusakan pada tanah dan mempengaruhi produktivitas padi (Triyono *et al.*, 2013). Perbaikan kualitas dan kesuburan tanah dapat menjadi salah satu pendekatan untuk meningkatkan produksi padi dan mengurangi konsumsi pupuk kimia.

*Plant growth-promoting rhizobacteria* (PGPR) adalah bakteri tanah yang menguntungkan untuk pertumbuhan tanaman. PGPR dapat hidup di dalam akar tanaman dan berasosiasi dengan tanaman (Beneduzi *et al.*, 2012). Menurut Gupta *et al.* (2015) PGPR berfungsi sebagai biokontrol karena dapat menginduksi resistensi tanaman terhadap patogen. Selain sebagai biokontrol, PGPR berfungsi sebagai biofertilizer karena dapat memicu pertumbuhan tanaman dengan cara memfiksasi nitrogen, menyediakan fosfat

terlarut, hingga menghasilkan fitohormon (Vacheron *et al.*, 2013).

Penelitian mengenai isolasi bakteri sawah pada daerah perkotaan telah dilakukan sebelumnya pada daerah Bekasi (data tidak dipublikasi). Selain Bekasi, daerah perkotaan lain yang merupakan penyangga Ibukota adalah Tangerang. Sebesar 63% lahan di Kabupaten Tangerang digunakan untuk pertanian (sawah maupun bukan sawah). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri tanah sawah yang berasal dari dua area persawahan di Kabupaten Tangerang. Dua lokasi persawahan ini dipilih sebagai perlakuan duplo. Umur dan varietas padi yang ditanam sama saat pengambilan sampel, sehingga kondisi kedua lokasi dianggap sama. Penelitian ini bermanfaat sebagai sumber informasi mengenai gambaran komunitas bakteri tanah sawah di Kabupaten Tangerang. Dari penelitian ini diharapkan diperoleh isolat-isolat potensial PGPR asal daerah urban yang cenderung lebih terpapar pada kondisi tidak ideal bagi pertanian sehingga bakteri yang hidup lebih tahan terhadap cekaman.

## MATERIAL DAN METODE

### Waktu dan Tempat Penelitian

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada dua lokasi sawah, yaitu di Desa Sukawali, Kecamatan Pakuhaji dan Desa Belimbing, Kecamatan Kosambi Kabupaten Tangerang (Gambar 1). Kegiatan penelitian dilakukan mulai bulan Juli-Desember 2016.

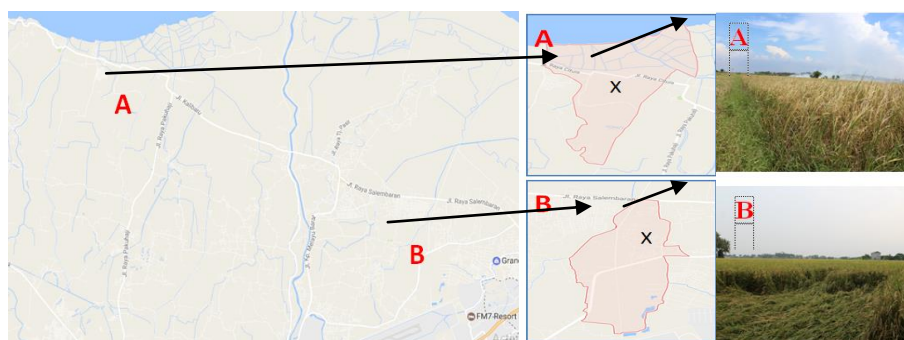
### Pengambilan Sampel

Usia padi saat pengambilan sampel tanah berkisar antara 25–40 hari setelah tanam. Pengukuran derajat keasaman tanah dengan menggunakan pH meter dilakukan terlebih dahulu. Tanah diambil dengan menggunakan plastik steril dari daerah perakaran padi dengan kedalaman 0–20 cm pada lima titik untuk setiap lokasi. Sampel kemudian dimasukkan ke dalam plastik steril, dicampur menjadi campuran komposit, lalu dibawa ke laboratorium dengan menggunakan *cool box* (Kesaulya *et al.*, 2015). Sampel tanah digunakan sebagai sumber inokulum dan digunakan untuk analisis tanah di Laboratorium Tanah IPB.

## Enumerasi Bakteri Tanah

Sampel tanah yang diambil kemudian dikultur dengan menggunakan metode pengenceran serial seperti dilakukan oleh Juwita *et al.* (2013) dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 10 g sampel tanah dihomogenisasi dengan 90 mL NaCl fisiologis, kemudian dikocok. Suspensi tanah dalam NaCl fisiologis ini adalah pengenceran  $10^{-1}$ . Sebanyak 1 mL suspensi sampel tanah dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 9 mL NaCl fisiologis

untuk mendapatkan tingkat pengenceran  $10^{-2}$ , begitu seterusnya hingga pengenceran  $10^{-6}$ . Hasil pengenceran  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  dan  $10^{-6}$  diambil sebanyak 1 mL kemudian dikultur ke dalam cawan petri bersamaan dengan 25 mL media *Nutrient Agar* (NA) dengan cara *pour plate*, setelah itu diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang. Tiap pengenceran dilakukan 2 pengulangan (duplo).



**Gambar 1.** Lokasi pengambilan sampel tanah sawah TGR 1 (A) dan TGR 2 (B)

## Perhitungan Total Plate Count (TPC) dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Tanah

Setelah diinkubasi, dilakukan perhitungan bakteri dengan menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). Syarat perhitungan bakteri dengan metode TPC adalah jumlah koloni dalam petri berisi 25–250 koloni (SNI No. 01–2332.3–2006 2006). Setelah jumlah koloni dihitung, dilakukan pengambilan koloni tunggal yang terdapat dalam petri kemudian diinokulasi kembali ke media NA yang baru untuk selanjutnya diinkubasi selama 18 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan morfologi makroskopis koloni, meliputi pigmentasi, bentuk, tepi koloni, elevasi, tekstur, tampilan, dan properti optik berdasarkan perbandingan dengan literatur pendukung. Koloni tunggal yang tumbuh kemudian diberi kode isolat dan dikarakterisasi lebih lanjut.

## Uji Kemampuan Pelarut Fosfat

Sebanyak 16,3 g media Pikovskaya dilarutkan ke dalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Setelah itu larutan disterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$ . Media kemudian dituang ke dalam cawan petri steril

dan didiamkan hingga padat. Isolat bakteri diinokulasi, lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Isolat yang mampu melarutkan fosfat akan menghasilkan zona bening di sekitar koloni (HiMedia Laboratories, 2011a).

## Uji Kemampuan Bakteri Penambat Nitrogen

Sebanyak 39,1 g media Jensen's dilarutkan kedalam 1000 mL akuades, kemudian dipanaskan hingga mendidih dan disterilisasi dengan autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit. Isolat bakteri tunggal diinokulasi lalu diinkubasi pada suhu ruang selama 8 hari. Isolat yang memiliki kemampuan untuk memfiksasi nitrogen akan tumbuh dalam media Jensen's (HiMedia Laboratories 2011b).

## Uji kemampuan bakteri penghasil IAA

Uji kemampuan bakteri penghasil IAA menggunakan 100 mL media NB yang mengandung tambahan L-triptofan 200 ppm. Isolat bakteri yang akan diuji dikultur dalam media NB selama 5 hari pada suhu  $28^{\circ}\text{C}$ . Kemudian kultur dipanen dengan sentrifugasi 8000 rpm selama 10 menit. Supernatan sebanyak 2 mL diambil kemudian ditambahkan 2 tetes asam orthofosforik dan 4 mL

reagen salkowski. Setelah itu diinkubasi kedalam ruang gelap selama 30 menit, lalu larutan tersebut diukur OD-nya pada panjang gelombang 535 nm (Dewi *et al.*, 2015). Konsentrasi IAA ( $\mu\text{g/mL}$ ) ditentukan dari persamaan kurva standar IAA.

### Uji Penghasil HCN

Uji penghasil HCN dilakukan seperti yang diuraikan dalam Bakker & Schippers (1987). Isolat bakteri sebanyak 1 mL dikultur dengan menggunakan media King's B yang ditambahkan dengan larutan gylsin 4,4 g/L. Setelah itu di bagian tutup petri diberi kertas whatman yang sebelumnya direndam dalam larutan 2% natrium karbonat dalam 0,5% asam pikrat. Perubahan warna kertas Whatman setelah 4 hari menjadi orange atau cokelat menunjukkan hasil positif bahwa isolat menghasilkan HCN.

### Uji Katalase

Uji dilakukan dengan cara meneteskan 3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  di atas *object glass*, kemudian ditambahkan isolat bakteri. Isolat bakteri diambil menggunakan tusuk gigi steril, lalu dicampurkan dengan larutan  $\text{H}_2\text{O}_2$  3%. Isolat bakteri yang bereaksi positif akan membentuk gelembung udara, hal tersebut menunjukkan bahwa isolat memiliki enzim katalase yang dapat memecah hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) menjadi air dan oksigen (Huda *et al.*, 2012).

### Uji Motilitas

Uji motilitas dilakukan dengan menusukkan kultur isolat pada media NA menggunakan jarum ose. Bakteri yang motil ditandai dengan pertumbuhan bakteri menyebar dari bekas tusukan jarum ose setelah inkubasi 24 jam sedangkan bakteri yang tidak motil hanya akan tumbuh pada daerah tusukan jarum ose.

### Uji Gram

Uji Gram dilakukan dengan meneteskan KOH 3% di atas *object glass*, kemudian ditambahkan isolat bakteri. Isolat bakteri diambil menggunakan tusuk gigi steril, lalu dicampurkan ke dalam KOH 3% selama  $\pm 60$  detik. Bakteri Gram negatif akan menghasilkan suspensi kental seperti lendir saat tusuk gigi diangkat (Powers, 1995).

## HASIL

### Perhitungan Total Plate Count (TPC) dan Analisis Tanah

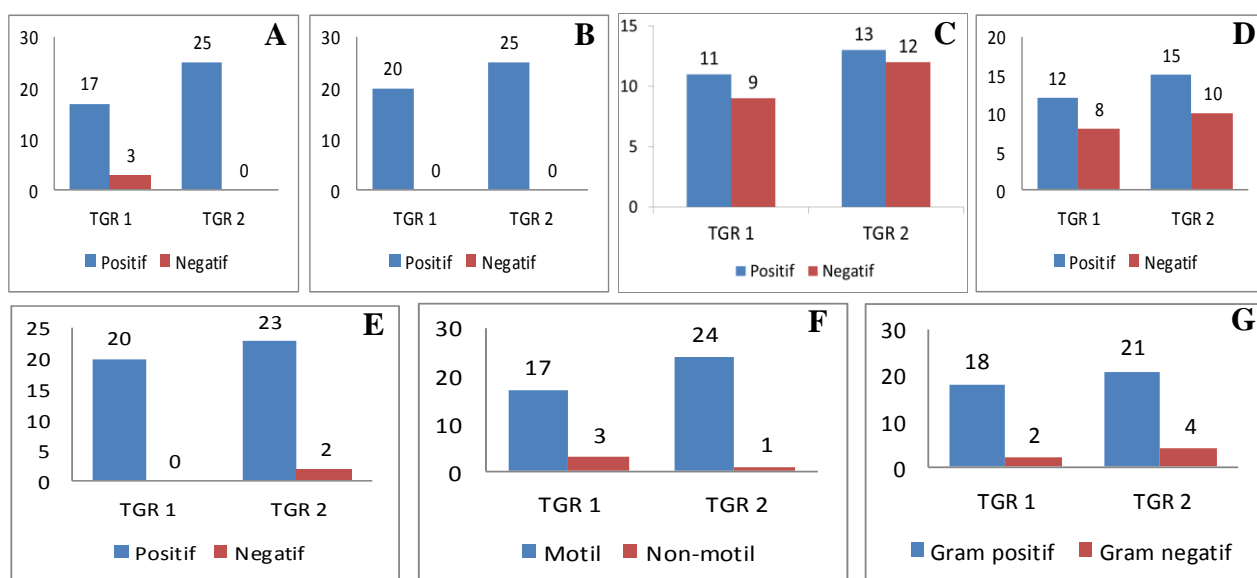
TPC yang didapatkan pada lokasi TGR 1 menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan dengan TGR 2, namun dari jumlah total isolat justru sebaliknya, TGR 2 lebih kaya jumlah isolatnya (Tabel 1). Perbedaan pola nilai TPC dan total isolat antar kedua lokasi berkaitan dengan tekstur fisik dan kimia tanah (Tabel 2).

**Tabel 1.** Enumerasi bakteri tanah sawah

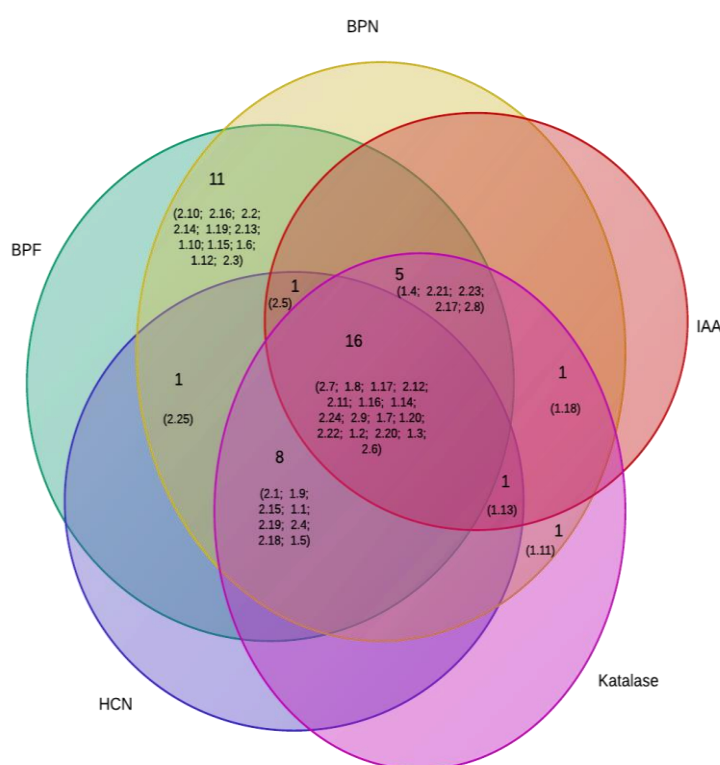
| Lokasi | Pengenceran | Jumlah koloni |     | (TPC)<br>(CFU/g)  | Total isolat | Nilai pH |
|--------|-------------|---------------|-----|-------------------|--------------|----------|
|        |             | I             | II  |                   |              |          |
| TGR 1  | $10^{-4}$   | 190           | 210 | $2,4 \times 10^6$ | 20           | 6,5      |
|        | $10^{-5}$   | 55            | 64  |                   |              |          |
| TGR 2  | $10^{-4}$   | 137           | 204 | $1,8 \times 10^6$ | 25           | 6,0      |
|        | $10^{-5}$   | 27            | 25  |                   |              |          |

**Tabel 2.** Hasil analisis beberapa parameter penting pada sampel tanah kedua lokasi

| Lokasi | C-Org (%) | N-Total (%) | Rasio C/N (%) | P (ppm) | K (ppm) | KTK ( $\text{cmol}^{(+)}/\text{kg}$ ) | Tekstur   |          |          |
|--------|-----------|-------------|---------------|---------|---------|---------------------------------------|-----------|----------|----------|
|        |           |             |               |         |         |                                       | Pasir (%) | Debu (%) | Liat (%) |
| TGR 1  | 4,39      | 0,24        | 18,29         | 66,16   | 412,97  | 42,17                                 | 9,03      | 61,82    | 29,15    |
| TGR 2  | 2,74      | 0,25        | 10,96         | 64,94   | 279,02  | 32,34                                 | 10,47     | 60,43    | 29,10    |



**Gambar 2.** Hasil uji BPF (A), BPN (B), penghasil IAA (C), penghasil HCN (D), katalase (E), motilitas (F), dan jenis Gram (G)



| Kemampuan                    | Jumlah | Kode Isolat  |
|------------------------------|--------|--|
| BPF, BPN, HCN, IAA, Katalase | 16     | TGR 2.7; TGR 1.8; TGR 1.17, TGR 2.12; TGR 2.11 TGR 1.16; TGR 1.14; TGR 2.24; TGR 2.9; TGR 1.7; TGR 1.20; TGR 2.22; TGR 1.2; TGR 2.20; TGR 1.3; TGR 2.6 |
| BPF, BPN, IAA, Katalase      | 5      | TGR 1.4; TGR 2.21; TGR 2.23; TGR 2.17; TGR 2.8   |
| BPF, BPN, HCN, IAA           | 1      | TGR 2.5  |
| BPF, BPN, HCN, Katalase      | 8      | TGR 2.1; TGR 1.9; TGR 2.15; TGR 1.1; TGR 2.19; TGR 2.4; TGR 2.18; TGR 1.5  |
| BPN, HCN, IAA, Katalase      | 1      | TGR 1.13   |
| BPF, BPN, Katalase           | 11     | TGR 2.10; TGR 2.16; TGR 2.2; TGR 2.14; TGR 1.19; TGR 2.13; TGR 1.10; TGR 1.15; TGR 1.6; TGR 1.12; TGR 2.3  |
| BPF, BPN, HCN                | 1      | TGR 2.25   |
| BPN, IAA, Katalase           | 1      | TGR 1.18   |
| BPN, Katalase                | 1      | TGR 1.11   |
| Total                        | 45     |  |

**Gambar 3.** Pemetaan keseluruhan isolat berdasarkan lima karakteristik PGPR yang diujikan

### Karakterisasi Kemampuan Isolat Sebagai PGPR

Secara umum, keseluruhan isolat dari kedua lokasi menunjukkan hasil yang lebih banyak positif pada karakter yang diujikan (Gambar 2). Karakter yang dijadikan perhatian dalam potensi sebagai PGPR antara lain kemampuan pelarut fosfat (BPN), fiksasi nitrogen (BPN), penghasilan IAA, peng-

hasilan HCN, dan kemampuan katalase. Motilitas dan jenis gram hanya merupakan data pendukung. Sebanyak 45 isolat yang diperoleh kemudian dilakukan pemetaan karakter melalui diagram venn (Gambar 3) menggunakan *webtool Ugent* (<http://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/Venn/>) dan Lucidchart ([www.lucidchart.com](http://www.lucidchart.com)). Analisis yang dilakukan melalui diagram venn berhasil membagi

ke-45 isolat menjadi 9 kelompok berdasarkan kemampuan karakter yang dimiliki (Gambar 3). Kelompok dengan anggota terbanyak adalah kelompok yang memiliki kelima karakter yang diujikan, yaitu sebanyak 16 isolat. Keenambelas isolat ini yang berpotensi untuk dikembangkan sebagai PGPR.

## PEMBAHASAN

### TPC dan Analisis Tanah

Nilai TPC yang lebih tinggi di lokasi TGR 1 tidak menunjukkan bahwa lokasi TGR 1 lebih subur dibandingkan TGR 2. Data hasil analisis tanah yang ditampilkan pada Tabel 2, justru TGR 2 yang dapat dikatakan lebih subur karena memiliki nilai rasio C/N yang lebih rendah. Nilai rasio C/N merupakan indikator yang sangat sensitif untuk mengetahui kondisi kesuburan tanah (Ge *et al.*, 2013). Semakin tinggi nilai rasio C/N, maka semakin lambat laju dekomposisi bahan organik tanah oleh mikroorganisme. Hal ini yang menyebabkan jumlah isolat yang ditemukan di lokasi TGR 2 lebih banyak. Nilai TPC bisa saja lebih tinggi di TGR 1, namun kemungkinan besar bakteri yang tumbuh di TGR 1 lebih seragam dibandingkan TGR 2. Keragaman jenis lebih mencerminkan kekayaan hayati dibandingkan kelimpahan yang tinggi. Kekayaan hayati yang lebih tinggi merupakan indikasi bahwa lokasi tersebut merupakan habitat yang nyaman bagi keberadaan makhluk hidup khususnya mikroorganisme.

Hal lain yang mendukung TGR 2 lebih banyak memiliki keragaman jenis isolat adalah kondisi tekstur tanah. TGR 1 lebih tinggi persentase debunya dan liatnya, sementara komposisi pasirnya lebih rendah dibandingkan dengan TGR 2 (Tabel 2). Tingginya persentase debu liat serta persentase pasir yang rendah membuat struktur tanah pada TGR 1 menjadi lebih padat karena partikel tanahnya lebih kecil. Partikel tanah yang lebih kecil menyebabkan porositas tanah menjadi lebih rendah dan tanah menjadi lebih padat. Padatnya tanah dapat menghalangi kolonisasi dan mobilitas bakteri di dalam tanah sehingga semakin padat tanah, maka semakin kecil pula keragaman dan populasi bakteri (Chau *et al.*, 2011). Tanaman lebih menyukai kondisi tanah yang lebih gembur karena memiliki ruang pori

untuk memudahkan mengikat unsur hara dan air (Hayati *et al.*, 2012).

### Uji Bakteri Pelarut Fosfat (BPF)

Uji BPF ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitar koloni bakteri yang diuji pada media Pikovskaya karena dipecahnya  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  yang terdapat pada media Pikovskaya. Ketersediaan fosfat dalam tanah umumnya rendah, karena fosfat terikat dalam bentuk Fe-fosfat dan Al-fosfat pada tanah asam atau dalam bentuk  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  pada tanah basa, sehingga fosfat tidak dapat begitu saja digunakan oleh tanaman (Suliasih & Rahmat, 2007). BPF berfungsi untuk melarutkan fosfat yang terdapat pada tanah yang pernah dipupuk oleh fosfat, sehingga menyediakan unsur hara bagi tanaman. BPF menyediakan unsur hara P bagi tanaman dengan melalui 3 mekanisme: menghasilkan senyawa pelarut P (asam organik, siderofor, proton, ion hidroksil,  $\text{CO}_2$ ); sekresi enzim pelarut P; serta melepas P dalam proses degradasi substrat (Sharma *et al.*, 2013).

Interaksi antara tanaman padi dan BPF lebih banyak terjadi pada daerah perakaran (rizosfer) dibandingkan endosfer dan non-rizosfer (Pahnwar *et al.*, 2013). Daerah perakaran khususnya pada tanaman padi, akan mensekresi asam organik (oksalat, malat, maupun sitrat) yang akan menjadi senyawa atraktan bagi BPF. Sekresi asam organik oleh akar dapat membuat kondisi rizosfer menjadi lebih asam yang ditandai dengan turunnya pH seperti terlihat pada lokasi TGR 2 yang lebih asam dibanding TGR 1 (Tabel 1). Hal ini dapat menjadi penyebab pada TGR 2, sebanyak 100% isolat yang ditemukan mempunyai kemampuan melarutkan fosfat dibandingkan TGR 1 yang hanya 85%.

### Uji Bakteri Penambat Nitrogen (BPN)

Seluruh isolat, baik yang berasal dari TGR 1 maupun TGR 2 berdasarkan kultur pada media Jensen menunjukkan BPN positif. Nitrogen merupakan unsur hara esensial bagi tanaman, nitrogen memiliki sifat yang cepat hilang jika berada di dalam tanah disebabkan volatilisasi (penguapan), nitrifikasi, denitrifikasi atau tercuci oleh air (hanyut) dan erosi (Sari & Prayudyaningsih, 2015). Walaupun Nitrogen bebas yang terdapat di atmosfer mencapai 80%, namun tidak dapat digunakan

langsung oleh tanaman, sehingga diperlukan mikroba untuk memfiksasi nitrogen bebas.

Menurut Dewi (2007) bakteri penambat nitrogen dibedakan menjadi dua kelompok, pertama kelompok *Rhizobium* yang mampu bersimbiosis dengan tanaman dan kedua kelompok *Azotobacter* yang tidak bersimbiosis dengan tanaman. Bakteri dapat memfiksasi nitrogen dengan cara mengubah nitrogen organik menjadi ammonia melalui proses deaminasi. Ammonia dapat diubah oleh bakteri melalui dua cara, langsung diasimilasi atau diubah terlebih dahulu dalam reaksi nitrifikasi (Pajares & Bohannon, 2016).

### Uji Bakteri Penghasil IAA

Berdasarkan persentase, isolat yang positif memproduksi IAA lebih banyak ditemukan di TGR 1 (55%) dibandingkan TGR 2 (52%). Konsentrasi IAA tertinggi terdapat pada isolat TGR 2.17 yaitu sebesar 0,116 ppm. Hasil yang didapatkan sangat kecil. Rendahnya IAA yang dihasilkan bisa disebabkan kondisi yang masih belum optimum dalam proses uji, karena kemungkinan kultur yang diuji sudah tua (120 jam). Hal ini berbeda dengan yang dilakukan Dewi *et al.*, (2015) yang melakukan pengujian saat kultur berumur 72 jam.

L-triptofan berfungsi sebagai prekursor untuk biosintesis hormon auksin pada mikroorganisme, dalam tanah triptofan berasal dari eksudat akar atau sel-sel yang rusak. Auksin dibiosintesis dari asam amino dengan prekursor triptofan dan dibantu oleh enzim IAA oksidase, hasilnya adalah IAN (*Indolaseto nitril*), TpyA (*Asam Indol piruvat*) dan IAAlD (*Indol asetat dehid*) suatu substansi yang mirip dengan auksin namun mempunyai aktifitas yang lebih kecil. Perubahan triptofan menjadi IAA melalui beberapa reaksi, yaitu deaminasi, dekarboksilasi dan reaksi hidrolisis. Reaksi deaminasi mengubah triptofan menjadi TpyA dengan bantuan enzim multispesifik *amino-transferase*, dilanjutkan dengan reaksi *dekarboksilasi* secara enzimatis yaitu mengubah TpyA menjadi IAAlD dan reaksi hidrolisis IAAlD menjadi IAA dengan bantuan enzim IAAlD oksidase (Ahemad & Kibret, 2014).

### Uji Hidrogen Sianida (HCN)

Kemampuan penghasil HCN pada isolat asal TGR 1 dan TGR 2 secara persentase

memberikan hasil yang sama sebesar 60% positif. Sianida merupakan metabolit sekunder dari beberapa mikroorganisme. HCN berperan sebagai biokontrol dengan menghambat pertumbuhan organisme patogen (Agbodjato *et al.*, 2015). HCN bekerja dengan cara menghambat kerja enzim yang memiliki kofaktor berupa ion logam seperti  $\text{Cu}^{2+}$  seperti pada sitokrom C oksidase (Martínez-Viveros *et al.*, 2010). Bakteri yang mampu memproduksi HCN umumnya adalah *Pseudomonas*. *Pseudomonas* memproduksi HCN di endorizosfer dengan cara mengubah glikosida sianogenik yang terdapat dalam akar tanaman (Bakker & Schippers, 1987). Bakteri memproduksi sianida dengan prekursor glisin yang ada di dalam media (Noori & Saud, 2012).

### Uji Motilitas dan Gram

Hasil uji motilitas dari 2 lokasi didapatkan 4 bakteri yang bersifat nonmotil dan 41 bakteri yang bersifat motil. Uji motilitas berfungsi untuk mengetahui pergerakan sel bakteri. Alat yang digunakan bakteri untuk bergerak adalah flagella sehingga sel bakteri dapat menyebar ke berbagai arah pada media. Selain sebagai alat gerak, flagel berperan sebagai alat lekat dan faktor virulensi terhadap inang (Haiko & Westerlund-Wikström, 2013).

Hasil uji dari 2 lokasi didapatkan 39 isolat merupakan bakteri Gram positif dan 6 isolat bakteri Gram negatif. Bakteri gram negatif memiliki peptidoglikan yang tipis sehingga mudah terekstraksi oleh etanol (alkali) dan meningkatkan permeabilitas dinding sel bakteri. Uji Gram dengan menggunakan larutan KOH 3% akan melarutkan dinding sel bakteri gram negatif dan menyebabkan keluarnya lendir yang merupakan materi genetik (DNA) dari bakteri (Powers, 1995).

### Uji Katalase

Hasil uji katalase dari 2 lokasi didapatkan 43 isolat yang mampu mendegradasi hidrogen peroksida dan 2 isolat yang tidak mampu mendegradasi hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida merupakan zat toksik yang berbahaya untuk tanaman karena mampu menghancurkan sel dengan cepat. Beberapa bakteri memiliki enzim katalase atau peroksidase yang mampu mengubah hidrogen

peroksida menjadi air dan oksigen (Hidayat & Alhadi, 2012).

## KESIMPULAN

Total bakteri di TGR 1 lebih banyak dibandingkan TGR 2, yaitu sebanyak  $2,4 \times 10^6$  CFU/g dan  $1,8 \times 10^6$  CFU/g namun dengan jenis isolat yang lebih banyak di TGR 2 (25 isolat) dibanding TGR 1 (20 isolat). Analisis tanah pada kedua lokasi menunjukkan TGR 2 lebih subur dibandingkan TGR 1 berdasarkan rasio C/N, kondisi pH, dan tekstur tanah. Berdasarkan Karakterisasi PGPR yang dilakukan, diperoleh 16 isolat yang berpotensi sebagai pupuk hayati. Analisis kadar IAA perlu dilakukan kembali pada umur kultur 72 jam untuk memastikan kemampuan isolat menghasilkan IAA. Selain itu, perlu dilakukan identifikasi lebih lanjut pada 16 isolat terpilih.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi atas Grant DRPM Skim Penelitian Dosen Pemula tahun 2016 dengan nomor surat 794/K3/KM/SPK.LT /2016.

## REFERENSI

- Agbodjato, N. A., Noumavo, P. A., Baba-Moussa F., Salami, H. A., Sina, H., Sèzan, A., Bankolé, H., Adjanohoun, A., & Baba-Moussa, L. (2015). Characterization of potential plant growth-promoting rhizobacteria isolated from maize (*Zea mays* L.) in Central and Northern Benin (West Africa). *Applied and Environmental Soil Science*, (901656), 1-9.
- Ahemad, M., & Kibret, M. (2013). Mechanisms and applications of plant growth-promoting rhizobacteria: Current perspective. *Journal of King Saud University-Science*, 26, 1-20
- Bakker, A. W., & Schippers, B. (1987). Microbial cyanide production in the rhizosphere in relation to potato yield reduction and *Pseudomonas spp* mediated plant growth-stimulation. *Soil Biology and Biochemistry*, 19(4), 451-457.
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., & Passaglia, L. M. P. (2012). Plant growth-promoting *rhizobacteria* (PGPR): their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35(4), 1044-1051.
- [BPS]. Badan Pusat Statistik. 2016. Laporan Bulanan: Data Sosial Ekonomi. Jakarta: Badan Pusat Statistik Nasional.
- Chau J. F., Bagtzoglou A.C., & Willig, M. R. (2011). The effect of soil texture on richness and diversity of bacterial community. *Environmental Forensic*, 12, 333-341.
- Dewi, I. R. (2007). Fiksasi N Biologi pada Ekosistem Tropis. [Tesis]. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Dewi, T. K., Arum, E. S., Imamuddin, H., & Antonius, S. (2015). Karakterisasi mikroba perakaran (PGPR) agen penting pendukung pupuk organik hayati. *Jurnal Prosiding Seminar Nasional Masyarakat Biodiversitas Indonesia*, 1(2), 289-295.
- Ge, S., Xu, H., Ji, M., & Jiang, Y. (2013). Characteristics of soil organic Carbon, total Nitrogen, and C/N ratio in Chinese apple orchards. *Open Journal of Soil Science*, 3, 213-217
- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., & Singh, V. (2015). Plant growth-promoting *Rhizobacteria* (PGPR): current and future Prospects for development of sustainable agriculture. *Microbial & Biochemical Technology*, 7(2), 96-102.
- Haiko, J., & Westerlund-Wikström, B. (2013). The role of the bacterial flagellum in adhesion and virulence. *Biology*, 2, 1242-1267.
- Hayati, E., Sabaruddin, & Rahmawati. (2012). Pengaruh jumlah mata tunas dan komposisi media tanam terhadap pertumbuhan setek tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). *Jurnal Agrista*, 16(3), 129-134.
- Hidayat, R., & Alhadi, F. (2012). Identifikasi *Streptococcus equi* dari Kuda yang Diduga Menderita Strangles. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 17(3), 199-203.
- HiMedia Laboratories. (2011a). *Technical Data: Pikovskayas Agar M520*. Mumbai: HiMedia™ publications.
- HiMedia Laboratories. (2011b). *Technical Data: Jensen's Medium M710*. Mumbai: HiMedia™ publications.



- Huda, C., Salni, & Melki. (2012). Penapisan aktivitas antibakteri dari bakteri yang berasosiasi dengan karang lunak *Sarcophyton* sp. *Maspari Journal*, 4(1), 69-76.
- Juwita, D. A., Suharti, N., & Rasyid, R. (2013). Isolasi jamur pengurai pati dari tanah limbah sagu. *Jurnal Farmasi Andalas*, 1(1), 35-41.
- Kesaulya, H., Baharuddin, Zakaria, B., & Syaiful, S. A. (2015). Isolation and physiological characterization of PGPR from potato plant rhizosphere in medium land of Buru island. *Procedia Food Science*, 3, 190-199.
- Martínez-Viveros, O., Jorquera, M. A., Crowley, D.E., Gajardo, G., & Mora, M. L. (2010). Mechanisms and practical considerations involved in plant growth promotion by rhizobacteria. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 10(3), 293-319
- Noori, M. S. S. & Saud, H. M. (2012). Potential plant growth promoting activity of *Pseudomonas* sp. Isolated from paddy soil in Malaysia as biocontrol agent. *Journal of Plant Pathology and Microbiology*, 3(2), 1-4
- Pahnwar, Q. A., Jusop, S., Naher, U. A., Othman R., & Razi, M. I. (2013). Application of potential Phosphate-Solubilizing Bacteria and organic acids on Phosphate Solubilization from Phosphate Rock in aerobic rice. *The Scientific World Journal*, 272409, 1-10.
- Pajares, S., & Bohannan, B. J. M. (2016). Ecology of Nitrogen fixing, nitrifying, and denitrifying microorganisms in tropical forest soils. *Frontiers in Microbiology*, 7(1045), 1-20
- Powers, E. M. (1995). Efficacy of the ryu nonstaining KOH technique for rapidly determining Gram reactions of food-borne and waterborne bacteria and yeasts. *Applied and Environmental Microbiology*. 61(10), 3756-3758.
- Sari, R., & Prayudyaningsih, R. (2015). Rhizobium: pemanfaatannya sebagai bakteri penambat nitrogen. *Info Teknis Eboni*, 2(1), 51-56.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. (2013). Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing Phosphorus deficiency in agricultural soils. *Springer Plus*, 2(587), 1-14.
- Suliasih & Rahmat. (2007). Aktivitas fosfatase dan pelarutan kalsium fosfat oleh beberapa bakteri pelarut fosfat. *Biodiversitas*, 8(1), 23-26.
- Triyono A, Purwanto, & Budiyono. (2013). Efisiensi penggunaan pupuk -N untuk pengurangan kehilangan nitrat pada lahan pertanian. *Prosiding Seminar Nasional Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. 526-531.
- Vacheron, J., Desbrosses, G., Bouffaud, M. L., Touraine, B., Moëne-Loccoz, Y., Muller, D., Legendre, L., Wisniewski-Dyé, F., & Prigent-Combaret, C. (2013). Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Frontier Plant Science*, 4(356). 1-19.
- Van der Schaar, R. M. A. (2016). Rice: The International Rice Market. *Retrieved from* <http://www.indonesia-investments.com/id/doingbusiness/commodities/rice/item183> [8 Agustus 2016].