

Karakteristasi Bakteri Asal Lahan Gambut Jambi dan Potensinya Sebagai Pupuk Hayati

Characterization and Screening of Bacteria from Jambi Peatlands and Their Potential as Biofertilizers

Etty Pratiwi^{1*}, Taruna D. Satwika², Alina Akhdiya³, Fahmuddin Agus¹

¹ Balai Penelitian Tanah, Jalan Tentara Pelajar No. 12, Cimanggu, Bogor 16124, Jawa Barat, Indonesia

² Fakultas Biologi, Universitas Jenderal Soedirman, Jalan Dr. Suparno 63, Grendeng, Purwokerto Utara, Banyumas 53122, Jawa Tengah, Indonesia

³ Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jalan Tentara Pelajar No. 3A, Cimanggu, Bogor 16124, Jawa Barat, Indonesia

INFORMASI ARTIKEL

Riwayat artikel:

Diterima: 28 Mei 2019
Disetujui: 18 Desember 2019
Dipublikasi online: 26 Desember 2019

Kata kunci:

Tanah gambut
Fitohormon
IAA
Bakteri pemacu tumbuh tanaman

Keywords:

Peat soils
Phytohormones
IAA
Plant growth-promoting bacteria

Direview oleh:

Wahida Annisa Yusuf, Edi Husen

Abstrak. Penggunaan pupuk hayati di Indonesia menunjukkan tren yang semakin meningkat. Pupuk hayati mulai banyak diaplikasikan di lahan optimal maupun di lahan suboptimal, termasuk lahan rawa dan lahan gambut. Tanah gambut memiliki banyak kendala, diantaranya adalah pH yang sangat rendah, dan kandungan serta ketersediaan unsur hara yang sangat rendah. Selain itu lahan gambut pada musim penghujan akan terjadi penggenangan air, sedangkan pada musim kemarau akan terjadi kekeringan. Untuk mendapatkan mikroba yang mampu bertahan di lingkungan ekstrim seperti ini kami isolasi mikroba *indigenous* dari lahan gambut di Tanjung Jabung Timur, Jambi. Daya adaptasi dan daya kompetisi mikroba di lapangan, merupakan dasar pemilihan mikroba sebagai pupuk hayati. Hasil pengujian karakterisasi dan fungsional isolat-isolat bakteri asal tanah gambut perkebunan kelapa sawit menunjukkan isolat *Bacillus cereus* 1, *Bacillus soli* 2, *Mycobacterium cubense* 8, *Rhodococcus equi* 15, *Bacillus pumilus* 21 dan *Nocardia jiangxiensis* 24 memiliki potensi sebagai pupuk hayati pemacu tumbuh tanaman. Bakteri-bakteri ini tidak bersifat patogen terhadap tanaman dan hewan mamalia, mampu memproduksi fitohormon IAA, mampu melarutkan P dan memfiksasi nitrogen.

Abstract. The use of biofertilizers in Indonesia shows an increasing trend. Biofertilizer is widely applied in optimal or suboptimal land, including swamp lands and peatlands. Peat soils has many problems, including very low pH, and very low concentration and availability of nutrients. In addition, peatlands are prone to seasonal waterlogging and drought. To be able to utilize microbes that survive the extreme environments, we isolated indigenous microbes from peatland in Tanjung Jabung Timur, Jambi. The adaptability and survival of the microbes in the field conditions are the basis for choosing microbes as biofertilizer. Results of the characterization and functional isolates of bacteria from peat soils under oil palm plantations at the site show that isolates of *Bacillus cereus* 1, *Bacillus soli* 2, *Mycobacterium cubense* 8, *Rhodococcus equi* 15, *Bacillus pumilus* 21 and *Nocardia jiangxiensis* 24 had the potential as biofertilizers. These bacteria were not pathogenic to plants and mammals, could produce IAA phytohormones, and were able to solubilize P and fix nitrogen.

Pendahuluan

Kesesuaian antara karakter mikroba dan keadaan di lapangan, terutama kompetisi dan adaptasi mikroba, merupakan dasar pemilihan mikroba (fungi atau bakteri) sebagai pupuk hayati. Banyak bakteri diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung. Mekanisme langsung bakteri sebagai agen pemacu tumbuh tanaman, antara lain kemampuan fiksasi N₂, solubilisasi fosfat, dan produksi fitohormon. Sedangkan mekanisme tidak langsung meliputi produksi siderofor, produksi HCN, dan penghambatan pertumbuhan patogen (Ahemad and Kibret 2014).

Bakteri memiliki kemampuan sebagai biostimulan dengan cara mensintesis dan mengatur konsentrasi berbagai zat pengatur tumbuh atau fitohormon yang memainkan peran pengaturan dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Fitohormon adalah zat organik yang mempengaruhi proses fisiologis tanaman pada konsentrasi yang sangat rendah (Dobbelaere *et al.* 2003). Ada lima kelas fitohormon yang terkenal, yaitu auksin, giberelin, sitokinin, etilena dan asam absisat (Zahir *et al.* 2004). Auksin yang paling aktif pada tanaman adalah *indole-3-acetic acid* atau IAA (Philip and Adikkala 1989). Diperkirakan 80% bakteri yang diisolasi dari rizosfer dapat menghasilkan fitohormon IAA (Patten and Glick 1996).

* Corresponding author: ettypratiwi@yahoo.com

Semula diketahui bahwa mekanisme utama peningkatan pertumbuhan tanaman oleh bakteri pada pupuk hayati adalah melalui fiksasi N_2 , tetapi beberapa penelitian termasuk yang dilakukan oleh Wong *et al.* (2015) membuktikan bahwa sesungguhnya yang lebih berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman adalah fitohormon, antara lain IAA, yang berperan penting dalam berbagai aspek fisiologi dan perkembangan tanaman (Philip and Adikkala 1989). Hasil penelitian terhadap penggunaan mutan *nif* (mutasi pada gen penyandi *nitrogen fixation*) yang tidak mampu lagi menambat N_2 menunjukkan bahwa pengaruh inokulasi tanaman sereal dengan mutan-mutan *nif* tidak berbeda nyata dengan inokulasi strain-strain *Azospirillum* tipe liar (Barbieri *et al.* 1986).

Penggunaan pupuk hayati di Indonesia menunjukkan tren yang semakin meningkat. Pupuk hayati mulai banyak diaplikasikan di lahan optimal maupun di lahan suboptimal, termasuk lahan rawa dan lahan gambut. Indonesia memiliki lahan gambut yang tergolong sangat luas. Luas lahan gambut di Indonesia berdasarkan data dari BBSDLP pada tahun 2011 tercatat sekitar 14.905.574 ha (Ritung *et al.* 2011). Lahan gambut terluas terdapat di Pulau Sumatera, yaitu 6.436.649 ha, sedangkan luas lahan gambut di Jambi sekitar 621.089 ha. Saat ini sebagian lahan gambut di Jambi, termasuk di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, mengalami degradasi karena beberapa aktivitas manusia, diantaranya konversi dengan kelapa sawit, pembakaran yang intensif untuk pertanian menyebabkan kondisi tanah yang buruk dan drainase yang buruk. Walaupun demikian hasil penelitian yang dilakukan Pratiwi *et al.* (2018) memperlihatkan bahwa di wilayah ini memiliki keanekaragaman mikroba yang cukup tinggi, dan beberapa diantaranya memiliki potensi sebagai pupuk hayati.

Pertumbuhan penduduk dan peningkatan kebutuhan akan produk pertanian menyebabkan lahan gambut yang tergolong lahan suboptimal digunakan untuk pertanian intensif. Tetapi pengelolaan lahan gambut memiliki banyak kendala, diantaranya adalah kandungan bahan organik yang tinggi, pH yang sangat rendah, persentase kejenuhan basa yang rendah, serta kelarutan Al, Fe, dan Mn yang tinggi. Hal ini mengakibatkan unsur hara makro seperti unsur Ca, N, P, K, dan Mg tidak tersedia dalam jumlah yang cukup, dan unsur hara mikro mengalami peningkatan sehingga bersifat racun bagi tanaman. Pada musim penghujan akan terjadi penggenangan air, sedangkan pada musim kemarau akan terjadi kekeringan (Agus *et al.* 2011). Untuk mendapatkan mikroba yang mampu bertahan di lingkungan seperti ini perlu diisolasi mikroba *indigenus* dari lahan-lahan suboptimal, karena mikroba tersebut lebih adaptif dan memiliki sejumlah

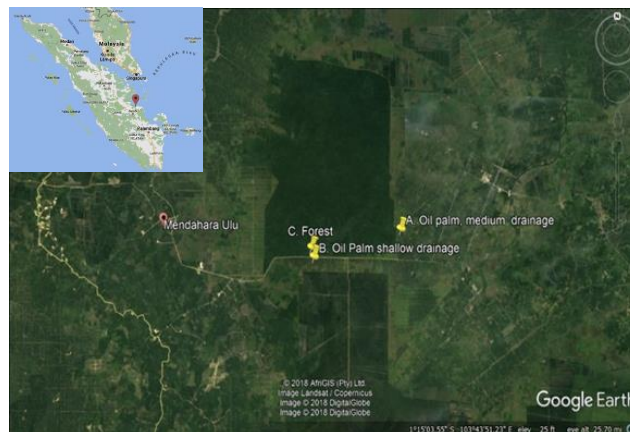
karakter fungsional yang dapat meningkatkan ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Hasil penelitian yang dilakukan oleh Situmorang *et al.* (2015) menunjukkan bahwa introduksi pupuk hayati berbahan aktif mikroba *indigenus* asal tanah gambut berpengaruh baik bagi pertumbuhan kelapa sawit di lahan gambut, sehingga mikroba tersebut berpotensi digunakan sebagai agen hayati yang lebih baik dan ramah lingkungan untuk pertanian berkelanjutan.

Penelitian ini dilakukan untuk karakterisasi dan uji fungsional serta analisis potensi isolat-isolat bakteri asal tanah gambut perkebunan kelapa sawit di Tanjung Jabung Timur, Provinsi Jambi sebagai pupuk hayati.

Bahan dan Metode

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi, Balai Penelitian Tanah. Bakteri-bakteri yang diuji berasal dari sampel tanah gambut di Kecamatan Mendahara Hulu, Kabupaten Tanjung Jabung Timur, Provinsi Jambi (Gambar 1). Lokasi pengambilan sampel merupakan lahan gambut di bawah tegakan kelapa sawit dan hutan gambut bekas tebangan yang sudah menjadi hutan lindung, dengan tingkat ketebalan gambut yang bervariasi antara 1,5-3,0 m.



Gambar 1. Lokasi pengambilan contoh tanah gambut di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, Provinsi Jambi

Figure 1. Sampling sites of peat in Tanjung Jabung Timur District, Jambi Province

Pengambilan Sampel

Sampel tanah diambil dari tiga lokasi yang berbeda, masing-masing pada kedalaman 0-20 cm (*topsoil*). Di setiap lokasi ditentukan 2 transek yang masing-masingnya terdiri atas 5 titik sampling. Transek berjarak sekitar 40 m antara satu dengan lainnya, sedangkan titik sampling

masing-masing berjarak 10, 25, 40, 65, dan 80 m dari saluran sekunder.

Setiap sampel tanah diambil menggunakan bor gambut dari tiga titik di sekitar titik transek yang telah ditentukan. Sampel tanah individu kemudian dihomogenisasi, dikomposit, dan diperlakukan sebagai sampel tunggal. Sampel tanah dipindahkan ke dalam kantong plastik, lalu ke dalam kotak es untuk meminimalkan aktivitas mikroba selama transportasi.

Bahan

Bahan yang digunakan ialah: isolat-isolat bakteri yang diisolasi dari tanah gambut perkebunan kelapa sawit di Kabupaten Tanjung Jabung Timur, Provinsi Jambi (Pratiwi *et al.* 2018). Media yang digunakan antara lain *Nutrient Broth*, NfB, Pikovskaya, *Blood Agar*, *Tryptic Soy Broth*, *Biolog*[®] *Identification Kit*.

Karakterisasi Fisiologi dan Biokimia

Karakterisasi ini bertujuan menentukan jenis spesies atau genus isolat bakteri. Kultur bakteri ditumbuhkan di *plate Biolog Universal Growth*. Sebanyak 150 µl suspensi mikroba dipipet ke dalam masing-masing sumur *microplate*, lalu diinkubasi pada suhu 30-35 °C selama 4-24 jam. Reaksi positif atau negatif ditandai dengan perubahan warna pada sumur. Reaksi positif ditandai dengan berubahnya warna sumur menjadi ungu, sedangkan reaksi negatif ditandai dengan tidak berubahnya warna sumur. *Microplate* dibaca oleh sistem *Biolog MicroStation TM*, kemudian dibandingkan dengan data mikroba yang ada di *database* untuk menentukan identifikasi spesies mikroba.

Uji Patogenisitas

Uji Hipersensitivitas pada Tanaman Tembakau

Salah satu sifat penting yang harus dimiliki oleh kandidat agen pupuk hayati adalah bersifat non patogenik terhadap tanaman. Uji hipersensitivitas terhadap tanaman tembakau dilakukan untuk mengetahui karakter patogenisitas isolat terhadap tanaman. Tanaman tembakau digunakan untuk uji respon hipersensitif karena daunnya lebar, mudah mudah dipelihara, serta mudah diinjeksi pada kondisi laboratorium. Respon hipersensitif pada tanaman ditunjukkan dengan adanya gejala bercak kuning atau coklat pada daun tembakau. Gejala tersebut menandakan kematian sel-sel pada jaringan yang diinfeksi oleh patogen. Kematian sel yang terinfeksi merupakan mekanisme pertahanan tanaman untuk menghambat

pertumbuhan dan perkembangan patogen. Mekanisme kematian sel yang terprogram tersebut secara konsisten berkaitan dengan induksi, baik lokal maupun sistemik, dari respon pertahanan tanaman (Heath 2000).

Tanaman tembakau ditumbuhkan sampai umur 2 bulan. Isolat bakteri ditumbuhkan dalam *Nutrient Broth* dengan komposisi: 3 g L⁻¹ ekstrak daging sapi dan 5 g L⁻¹ pepton. Kultur diinkubasi hingga nilai OD₆₀₀ mencapai 0,8. Uji hipersensitivitas dilakukan dengan mengikuti prosedur yang dipublikasikan oleh Zou *et al.* (2006). Sebanyak 0,5 ml suspensi bakteri (0,5 ml) disuntikkan ke tanaman tembakau menggunakan *syringe* tanpa jarum. Sebagai kontrol negatif daun diinfiltirasi dengan 0,5 ml NB steril, sedangkan kontrol positif daun tembakau yang diinfiltirasi dengan isolat *Ralstonia solanacearum*. Setiap perlakuan diulang sebanyak tiga kali. Reaksi patogenisitas pada tanaman ditandai dengan adanya gejala nekrotik yang muncul pada jaringan daun dan diamati pada hari kedua setelah infiltirasi.

Uji Aktivitas Hemolitik

Uji patogenisitas isolat juga dilakukan berdasarkan uji hemolisis pada medium *Blood Agar* (3 g L⁻¹ *beef extract*, 5 g L⁻¹ pepton, 5% (v/v) darah domba, 20 g L⁻¹ agar) sesuai dengan yang dilakukan oleh Tarshis and Frisch (1951). Uji aktivitas hemolitik ini dilakukan untuk mengetahui potensi isolat sebagai patogen pada hewan mamalia. Kultur murni isolat diinokulasikan pada media *Blood Agar* dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Reaksi patogenisitas pada mamalia ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekeliling koloni. Walaupun belum baku digunakan sebagai uji mutu untuk pupuk hayati, beberapa peneliti menggunakan uji hemolisis untuk memastikan mikroba yang digunakan aman bagi tanaman dan hewan atau manusia.

Uji Penambatan Nitrogen

Kemampuan mikroba menambat nitrogen ditemukan hanya pada berbagai kelompok prokariot (anerobik, fakultatif anerobik, mikroaerofilik, dan bakteri aerobik), dan tidak ditemukan pada kelompok eukariot (Kumar 2014). Bakteri penambat nitrogen dapat tumbuh dalam media cair, semipadat atau padat. Beberapa media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri penambat nitrogen antara lain medium bebas nitrogen Nfb, medium *Nitrogen Malate* (Dobereiner *et al.* 1976), medium bebas nitrogen *Norris Glucose*, medium bebas nitrogen *Burke*, dan medium *Rennie* termodifikasi (Atlas 2010).

Pada penelitian ini uji penambatan nitrogen secara kualitatif menggunakan media Nfb, media bebas nitrogen yang disuplemen dengan *bromothymol blue*, dengan komposisi 5 g L⁻¹ DL-*malic acid*, 4,0 g L⁻¹ KOH, 0,5 g L⁻¹ K₂HPO₄, 0,05 g L⁻¹ FeSO₄·7H₂O, 0,01 g L⁻¹ MnSO₄·H₂O, 0,1 g L⁻¹ MgSO₄·7H₂O, 0,02 g L⁻¹ NaCl, 0,01 g L⁻¹ CaCl₂·2H₂O, 0,002 g Na₂MoO₄·2H₂O, 2,0 ml 0,5% *bromothymol blue*, 20,0 g L⁻¹ agar, pH media 6,8-7,0 (Dobereiner *et al.* 1976). Isolat-isolat ditumbuhkan pada media NfB padat dan diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam. Medium ini bersifat selektif karena tidak mengandung unsur nitrogen, sehingga hanya bakteri yang memiliki kemampuan menambat nitrogen saja yang dapat tumbuh pada medium tersebut. Pengamatan dilakukan terhadap ada dan tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Koloni bakteri yang dapat menambat nitrogen ditandai dengan berubahnya berwarna media dari hijau menjadi kuning pada media Nfb padat.

Uji Pelarutan Fosfat

Uji pelarutan fosfat dilakukan secara kualitatif menggunakan media *Pikovskaya Agar* (5,0 g L⁻¹ Ca₃(PO₄)₂; 0,2 g L⁻¹ NaCl; 0,2 g L⁻¹ KCl; 0,1 g L⁻¹ MgSO₄·7H₂O; 2,5 mg L⁻¹ MnSO₄·7H₂O; 2,5 mg L⁻¹ FeSO₄·7H₂O; 0,5 g L⁻¹ (NH₄)₂SO₄; 10,0 g L⁻¹ glukosa; 0,5 g L⁻¹ ekstrak khamir; 20,0 g L⁻¹ agar) (Pikovskaya 1948). Isolat bakteri yang memperlihatkan kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling koloni setelah diinkubasi pada suhu ruang selama 3 hari.

Uji Produksi Fitohormon IAA

IAA merupakan salah satu hormon auksin paling aktif secara fisiologis (Mohite 2013; Tsavkelova *et al.* 2005). Beberapa mikroba telah terbukti mampu menghasilkan IAA sebagai bentuk interaksi yang menguntungkan antara mikroba dan tanaman (Kamneva and Muronets 1999). Hal ini disebabkan auksin berperan dalam stimulasi germinasi biji dan umbi, meningkatkan laju pembentukan akar dan xylem, mengontrol pertumbuhan vegetatif, tropisme, perkembangan bunga dan buah, proses fotosintesis, pembentukan pigmen, biosintesis metabolit, dan resistensi tanaman terhadap stres (Tsavkelova *et al.* 2006).

Uji produksi fitohormon IAA dilakukan dengan menumbuhkan kultur pada media cair *Tryptic Soy Broth* (17, 0g/l tryptone, 3,0 g/l phytone, 5,0 g/l NaCl, 2,5 g/l K₂HPO₄, 2,5 g/l glukosa), kemudian diinkubasi selama 48 jam. Setelah proses inkubasi, kultur cair dipindahkan pada tabung Falcon steril dan disentrifugasi dengan kecepatan

2.000 rpm. Pengukuran IAA yang ada pada supernatan menggunakan metode Salkowski yang telah dimodifikasi oleh Glickmann and Dessaux (1995). Pengujian dilakukan sebanyak 3 kali ulangan. Konsentrasi IAA diukur berdasarkan nilai absorbansi spektrofotometri pada panjang gelombang (λ) 535 nm.

Pengukuran Konsentrasi IAA

Sebanyak 1,75 ml kultur disentrifugasi pada 10.000 rpm selama 15 menit, suhu 4°C. Supernatan tersebut diambil dan dijadikan sebagai sampel untuk pengukuran kadar IAA. Masing-masing larutan standar IAA, blanko (hanya berisi akuades steril) serta sampel supernatan bakteri diambil sebanyak 1 ml, kemudian masing-masing ditambah dengan 1 ml reagen Salkowski, dihomogenkan menggunakan vortex, dan diinkubasi selama 20 menit di ruang gelap. Kemudian masing-masing larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada $\lambda = 535$ nm. Hasil pengukuran absorbansi pada larutan standar IAA dibuat kurva standarnya, lalu ditentukan regresinya.

Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri

Prosedur pengujian menggunakan *Biolog Identification Kit* merupakan pengujian fisiologi menggunakan 95 jenis gula dalam mikroplat dan 1 kontrol (tanpa gula) yang siap diinokulasi. Sejumlah karakter uji pada *Biolog Identification Kit* mencakup 71 sumber karbon ditambah 23 asai sensitivitas kimia, diantaranya: gula-gula/sumber karbon, gula heksosa-PO₄, asam-asam amino, asam-asam heksosa, asam karboksilat dan asam lemak, pH asam (pH 4 dan 5), konsentrasi NaCl (1%, 4%, dan 8%), asam laktat, dan pewarnaan Gram/bentuk sel.

Karakterisasi dilakukan dengan mengamati morfologi koloni serta pola reaksi biokimia setiap isolat bakteri. Genus atau spesies dari isolat yang diidentifikasi menggunakan *Biolog[®] Identification Kit* dapat dipercaya apabila pola *metabolic fingerprint* yang diperoleh memiliki nilai *similarity* lebih dari 0,5 dengan spesies database dari *Biolog[®] Identification Kit* setelah melewati 8-48 jam inkubasi (*Microstation[™] System/Microlog[™] User's Guide*). Dari seluruh data karakter isolat yang terekam dan dibandingkan dengan spesies database *Biolog[®] Identification Kit*, diketahui nama spesies dari isolat-isolat uji.

Hasil dan Pembahasan

Karakter Kimia Tanah Gambut

Karakter kimia lahan gambut di Tanjung Jabung Timur, Jambi disajikan pada Tabel 1. Nilai pH H₂O tanah di lokasi sampling berkisar antara 3,57-3,85 yang berarti

tanah tersebut bersifat masam. Kandungan bahan organik berkisar antara 49,99-53,60% dan nilai nisbah C/N di semua lokasi antara 28,33-31,99%. Nilai nisbah C/N >20 ini mengindikasikan tingkat dekomposisi yang belum lanjut (Noor 2001). Kandungan P tersedia (ekstrak Bray 1) berkisar antara 27,24-34,98%.

Uji Patogenisitas Isolat

Uji Hipersensitivitas pada Tanaman Tembakau

Kemampuan bakteri menyebabkan penyakit dapat diketahui melalui reaksi hipersensitif pada tanaman inang maupun bukan tanaman inang. Bila suatu bakteri patogen diinokulasi pada area terbatas daun tanaman, maka akan terjadi tiga tipe reaksi, yaitu: (i) reaksi hipersensitif, terjadi kematian sel tanaman yang cepat tanpa terjadi penyebaran bakteri ke jaringan sekitarnya, (ii) reaksi penyakit, respon inang lambat terhadap infiltrasi bakteri, sehingga bakteri menyebar pada bagian lain dari tanaman sehingga tanaman menjadi layu bahkan mati), ataupun (iii) tidak terdapat reaksi (Zou *et al.* 2006).

Ada 3 isolat yang menimbulkan reaksi hipersensitif terhadap tanaman tembakau, yaitu isolat nomor 10, 18, dan 23 (Gambar 1). Untuk selanjutnya isolat-isolat tersebut tidak dilakukan pengujian lanjutan, karena berpotensi sebagai patogen pada tanaman.

Uji Aktivitas Hemolitik

Uji aktivitas hemolitik dilakukan untuk mengetahui potensi isolat sebagai patogen pada hewan mamalia. Dari

hasil pengujian pada *Blood Agar* diketahui terdapat 4 isolat bakteri yang memperlihatkan zona jernih di sekitar koloni, yakni isolat nomor 7, 13, 16, dan 17 (Gambar 2). Isolat-isolat tersebut mampu melisiskan darah sehingga berpotensi sebagai patogen bagi manusia dan hewan mamalia.

Walaupun uji mutu pupuk hayati yang tertuang di Permentan No. 01/2019 tidak mengisyaratkan mikroba tidak boleh bersifat patogenik bagi manusia, tetapi beberapa laboratorium telah melakukan uji aktivitas hemolitik pada *Blood Agar* sebagai bagian dari uji mutu pupuk hayati.

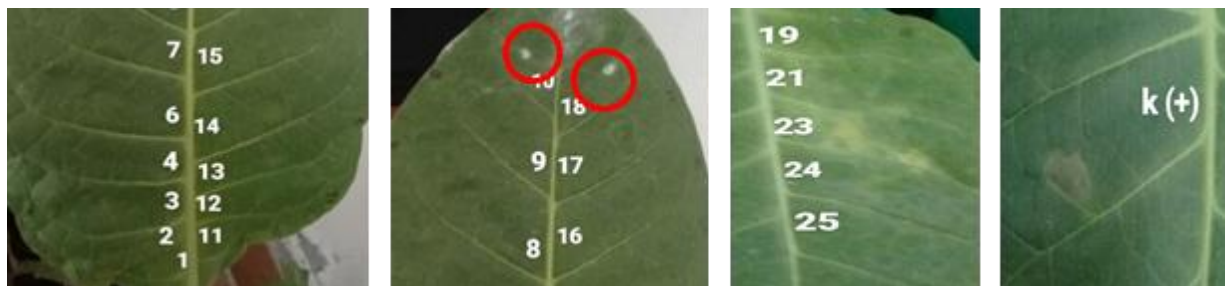
Karakterisasi dan Identifikasi Bakteri

Data identifikasi spesies bakteri berdasarkan tingkat probabilitas, kesamaan, jarak, dan bentuk sel isolat uji ditampilkan pada Tabel 2. Genus dan spesies dari isolat yang diidentifikasi menunjukkan pola reaksi biokimia yang berbeda-beda (data tidak ditampilkan). Secara umum hasil-hasil tersebut menunjukkan bahwa isolat-isolat yang diperoleh memiliki keragaman yang tinggi dari sisi karakter penggunaan sumber karbon. Hal ini berkaitan dengan asal isolat yang berasal dari lahan gambut. Lahan gambut dicirikan dengan jumlah simpanan karbon yang tinggi karena ketidakseimbangan antara input produksi primer (sisa-sisa tanaman) dengan laju dekomposisi oleh mikroba (Clymo *et al.* 1998). Komunitas mikroba gambut dan fungsi biologisnya telah teradaptasi pada keadaan

Tabel 1. Karakter kimia tanah gambut kedalaman 0-20 cm pada di lokasi studi di Kabupaten Tanjung Jabung Timur

Table 1. Chemical characteristics of the peat of 0-20 cm depth at the study site of Tanjung Jabung Timur District

pH (ekstrak 1:5)		Bahan organik			Bray 1
H ₂ O	KCl	Walkley & Black	Kjeldahl	C/N	P ₂ O ₅
		C	N		P ₂ O ₅
	%.....			mg kg ⁻¹
3,57 - 3,85	2,40 - 2,49	49,99 - 53,60	1,68 - 1,85	28,33 - 31,99	27,24 - 34,98



Gambar 1. Reaksi hipersensitivitas yang ditimbulkan oleh isolat-isolat bakteri pada tanaman tembakau. k(+): Kontrol positif (*R. solanacearum*), 1 - 24: isolat-isolat uji

Figure 1. Hypersensitivity reactions caused by bacterial isolates from peat soil on tobacco plants. k(+): Positive control (*R. solanacearum*), 1 - 24: bacterial isolates

yang berubah-ubah karena variasi jenis input sehingga mampu mengubah jalannya siklus nutrisi sesuai dengan nutrisi yang tersedia (Andersen *et al.* 2013).

Dari hasil identifikasi mikroba pada Tabel 2 dapat diketahui spesies-spesies bakteri yang mendominasi di tanah gambut. Karakterisasi atau identifikasi mikroba menggunakan *Biolog*[®] *Identification Kit* merupakan karakterisasi secara fenotipik (morfologi, fisiologi,

biokimia) yang hanya dapat dilakukan terhadap mikroba yang dapat dikulturkan. Dari seluruh bakteri yang diidentifikasi memiliki tingkat probabilitas dan kesamaan yang bervariasi antara sebesar 0,12-0,87. Genus atau spesies dari isolat yang diidentifikasi menggunakan *Biolog*[®] *Identification Kit* dapat dipercaya apabila pola *metabolic fingerprint* yang diperoleh memiliki nilai *similarity* lebih dari 0,50 dengan spesies database dari



Gambar 2. Reaksi hemolisis yang ditimbulkan oleh isolat bakteri asal lahan gambut pada media *Blood Agar*

Figure 2. Hemolysis reaction caused by bacterial isolates from peat soil on *Blood Agar* media

Tabel 2. Identifikasi spesies bakteri berdasarkan tingkat probabilitas, kesamaan, jarak yang dibandingkan dengan *database* pada *Biolog*[®] *Identification Kit*

Table 2. Identification of bacterial species based on the level of probability, similarity, distance compared to the database in the *Biolog*[®] *Identification Kit*

No.	Nomor Isolat	Tingkat Probabilitas/Kesamaan	Spesies
1	1	0,12	<i>Bacillus cereus</i>
2	2	0,52	<i>Bacillus soli</i>
3	3	0,61	<i>Paenibacillus illinoisensis</i>
4	4	0,58	<i>Paenibacillus wynnii</i>
5	6	0,82	<i>Cupriavidus paucalus</i>
6	7	0,58	<i>Bacillus luciferensis</i>
7	8	0,54	<i>Mycobacterium cubense</i>
8	9	0,56	<i>Bacillus salarius</i>
9	10	0,71	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
10	11	0,60	<i>Paenibacillus glucanoliticus</i>
11	12	0,70	<i>Paenibacillus peoriae</i>
12	13	0,73	<i>Bacillus pumilus</i>
13	14	0,72	<i>Paenibacillus peoriae</i>
14	15	0,65	<i>Rhodococcus equi</i>
15	16	0,63	<i>Bacillus vallismortis</i>
16	17	0,57	<i>Bacillus panaciterrae</i>
17	18	0,70	<i>Bacillus kribensis</i>
18	19	0,70	<i>Paenibacillus peoriae</i>
19	21	0,73	<i>Bacillus pumilus</i>
20	23	0,51	<i>Chryseobacterium balustinum</i>
21	24	0,20	<i>Nocardia jiangxiensis</i>

Biolog[®] *Identification Kit* setelah melewati 8-48 jam inkubasi (Microstation[™] System/Microlog[™] Use Guide).

Uji Potensi Bakteri sebagai Pupuk Hayati

Isolat-isolat yang tidak menunjukkan reaksi hipersensitif terhadap tembakau dan tidak memiliki aktivitas hemolitik dipilih untuk diuji potensinya sebagai pupuk hayati pemacu tumbuh tanaman. Uji potensi yang dilakukan yaitu uji kemampuan penambatan nitrogen dan pelarutan fosfat, karena nitrogen dan fosfat merupakan unsur hara makro penting bagi tanaman yang umumnya dalam keadaan tidak tersedia pada tanah. Bakteri penambat nitrogen mampu menambat N₂ menjadi NH₃ yang dapat diserap secara langsung oleh tanaman (Bhattacharjee *et al.* 2008). Sedangkan bakteri pelarut fosfat dapat menghasilkan asam-asam organik yang mampu melarutkan fosfat yang terikat oleh Fe dan Al pada tanah masam sehingga dapat diserap oleh tanaman (Satyaprakash *et al.* 2017). Berdasarkan pengujian hanya tiga isolat yang mampu melarutkan fosfat, namun hampir seluruhnya dapat tumbuh di media NfB (Tabel 3). Media NfB merupakan medium bebas nitrogen sehingga isolat bakteri yang mampu memfiksasi N₂ yang dapat tumbuh di medium ini.

Ada 6 isolat bakteri yang memiliki kemampuan memproduksi fitohormon IAA yakni *Bacillus cereus* 1, *Bacillus soli* 2, *Mycobacterium cubense* 8, *Rhodococcus equi* 15, *Bacillus pumilus* 21 dan *Nocardia jiangxiensis* 24 dengan kisaran produksi IAA sebesar 5,49-139,52 ppm (Tabel 3), semuanya termasuk bakteri Gram positif.

Menurut Vandeputte *et al.* (2005) kemampuan untuk mensintesis IAA tidak terbatas pada bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif juga merupakan penghasil IAA. Manfaat menggunakan bakteri pembentuk spora Gram-positif penghasil IAA seperti *Bacillus* sp. sebagai pupuk hayati di tanah gambut dinilai memiliki kelebihan. *Bacillus* sp. mampu bertahan dalam keadaan dorman dapat hidup pada pada kondisi lingkungan dengan cekaman biotik, seperti tergenang atau kekeringan, dengan membentuk endospora sehingga bakteri ini dapat hidup dorman dalam waktu yang cukup lama (Graff and Conrad 2005).

Bakteri-bakteri yang memiliki kemampuan menghasilkan IAA ini berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati di lahan gambut. Penelitian yang dilakukan Ahmed dan Hasnain (2010) membuktikan adanya peningkatan pertumbuhan yang diberikan pada tanaman kentang yang diinokulasi dengan dua isolat bakteri Gram positif kelompok *Bacillus*; yaitu *B. flexus* P4 dan *Bacillus* sp. S6 yang masing-masing menghasilkan 59 dan 86 µg/ml IAA. Bakteri *B. flexus* P4 meningkatkan panjang tunas sebesar 40% sementara *Bacillus* sp. S6 meningkatkan panjang tunas sebesar 35%. Panjang akar juga meningkat masing-masing sebesar 40% dan 50% dibandingkan dengan perlakuan yang tidak diinokulasi. Kedua isolat tersebut meningkatkan jumlah daun tanaman. Inokulasi tanaman dengan kedua isolat ini meningkatkan kandungan IAA keseluruhan tanaman hingga 71% dan inokulasi kecambah tanaman meningkatkan jumlah akar masing-masing sebesar 100% dan 130%. Eksperimen tersebut menunjukkan bahwa bakteri Gram-positif penghasil IAA

Tabel 3. Uji potensi isolat-isolat bakteri sebagai pemacu tumbuh tanaman

Table 3. Test the potential of bacterial isolates as plant growth biostimulants

No Isolat	Spesies	Gram	Pelarutan Fosfat	Pertumbuhan pada Media NfB	Produksi IAA (ppm)
1	<i>Bacillus cereus</i>	+	+	+	8,27 ± 1,68
2	<i>Bacillus soli</i>	+	+	-	139,52 ± 1,26
3	<i>Paenibacillus illinoisensis</i>	+	-	+	0
4	<i>Paenibacillus wynnii</i>	+	-	+	0
6	<i>Cupriavidus pauculus</i>	-	-	+	0
8	<i>Mycobacterium cubense</i>	+	-	+	5,49 ± 1,68
9	<i>Bacillus salarius</i>	+	-	+	0
11	<i>Paenibacillus glucanoliticus</i>	+	-	+	0
12	<i>Paenibacillus peoriae</i>	+	-	+	0
14	<i>Paenibacillus peoriae</i>	+	-	+	0
15	<i>Rhodococcus equi</i>	+	-	+	47,26 ± 13,33
19	<i>Paenibacillus peoriae</i>	+	-	+	0
21	<i>Bacillus pumilus</i>	+	+	+	21,89 ± 1,99
24	<i>Nocardia jiangxiensis</i>	+	-	+	6,49 ± 0,28

dapat digunakan sebagai inokulan yang efektif meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Kemampuan Menambat Nitrogen

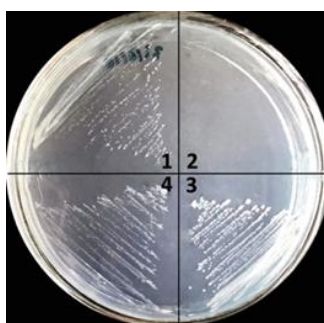
Hampir semua isolat bakteri yang diuji pada medium Nfb positif menambat nitrogen (Tabel 3 dan Gambar 3). Medium Nfb sama sekali tidak mengandung unsur N, sehingga hanya bakteri yang mampu memfiksasi N₂ saja yang mampu tumbuh pada medium tersebut. Pada Gambar 3 diperlihatkan contoh isolat yang tumbuh dan tidak tumbuh pada medium Nfb. Dari 4 isolat yang diuji terlihat isolat nomor 2 tidak tumbuh pada medium Nfb, sedangkan isolat lainnya dapat tumbuh walau koloninya bervariasi tebal dan tipis.

Ketahanan terhadap Cekaman Lingkungan

Ketahanan terhadap cekaman lingkungan merupakan

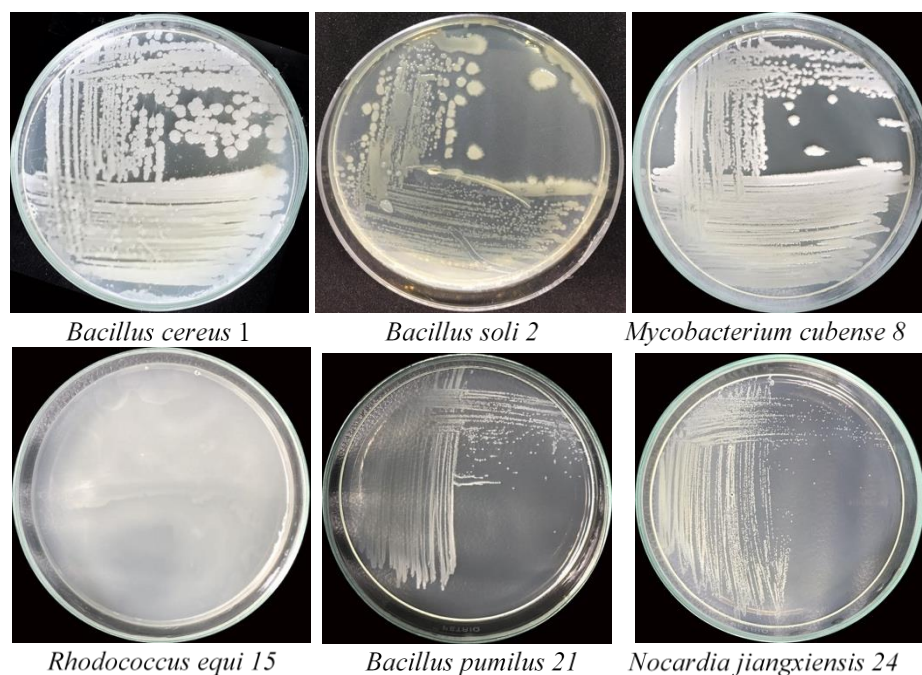
salah satu karakter penting yang harus dimiliki oleh bakteri. Cekaman lingkungan diantaranya dapat berupa pH masam dan pH alkalin. Seluruh isolat yang memiliki kemampuan memproduksi IAA dapat tumbuh pada pH 4,0 dan pH 5,0 (Tabel 4) sehingga dapat digolongkan sebagai bakteri asidofilik atau tahan pH masam. Menurut Johnson dan Schippers (2017) mikroba asidofilik merupakan mikroba yang dapat tumbuh pada pH di bawah 5,0. Karakter isolat-isolat uji yang tahan terhadap pH masam ini diperkirakan berkaitan dengan asal isolat yang diisolasi dari lahan gambut. Semua isolat diisolasi dari tanah gambut yang memiliki pH 3,57-3,85 (Pratiwi *et al.* 2018).

Bakteri pemacu tumbuh tanaman yang memiliki toleransi terhadap cekaman pH masam ini memiliki potensi untuk diaplikasikan pada lahan-lahan suboptimal. Isolat-isolat *Bacillus cereus* 1, *Bacillus soli* 2, *Mycobacterium cubense* 8, *Rhodococcus equi* 15, *Bacillus*



Gambar 3. Kemampuan tumbuh beberapa isolat bakteri pada media bebas nitrogen Nfb

Figure 3. Bacterial growth on Nfb nitrogen-free media



Gambar 4. Koloni bakteri pemacu tumbuh tanaman yang dapat diaplikasikan pada tanah masam

Figure 4. Colonies of bacterial biostimulants that can be applied to acid soils

pumilus 21 dan *Nocardia jiangxiensis* 24 (Gambar 4) berpotensi untuk diaplikasikan sebagai pupuk hayati pada lahan masam.

Tabel 4. Pertumbuhan bakteri pada cekaman pH masam

Table 4. Bacterial growth at acidic pH

Cekaman Lingkungan	Nomor Isolat					
	1	2	8	15	21	24
pH 4,0	+	+	+	+	+	+
pH 5,0	+	+	+	+	+	+

Kesimpulan

Hasil pengujian karakterisasi dan uji fungsional terhadap isolat-isolat bakteri asal lahan gambut Tanjung Jabung Timur, Jambi menunjukkan adanya potensi mikroba tersebut sebagai pupuk hayati. Isolat *Bacillus cereus* 1, *Bacillus soli* 2, *Mycobacterium cubense* 8, *Rhodococcus equi* 15, *Bacillus pumilus* 21 dan *Nocardia jiangxiensis* 24 memiliki potensi sebagai pupuk hayati pemacu tumbuh tanaman. Selain tidak bersifat patogen terhadap tanaman dan hewan mamalia, juga memiliki kemampuan dalam produksi fitohormon IAA, melarutkan P, dan menambat nitrogen.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dibiayai oleh Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) melalui Dana Ilmu Pengetahuan Indonesia (DIPI). Ucapan terima kasih disampaikan kepada Prof. Jane Hill dan Dr. Eleanor Warren-Thomas dari University of York, United Kingdom, atas saran perbaikannya. Etty Pratiwi dan Taruna D. Satwika adalah “Kontributor Utama”, sedangkan Alina Akhdiya dan Fahmuddin Agus adalah “Kontributor” untuk naskah ini.

Daftar Pustaka

Agus F, Markus A, Jamil A, Masganti. 2014. Lahan Gambut Indonesia: Pembentukan, Potensi untuk Pertanian dan Kualitas Lingkungan. Bogor: IAARD Press.

Ahemad M, Kibret M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: Current perspective. *J. King Saud Univ. Sci.* 16:1-20.

Ahmed A, Hasnain S. 2010. Auxin-producing *Bacillus* sp.: auxin quantification and effect on the growth of *Solanum tuberosum*. *Pure Appl. Chem.* 82:313–319.

Andersen R, Chapman SJ, Artz RRE. 2013. Microbial communities in natural and disturbed peatland: A review. *Soil Biol. Biochem.* 57: 979-994.

Atlas RM. 2010. Handbook of Microbiological Media. CRC press.

Barbieri P, Zanelli T, Galli E, Zanetti G. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.* 36:87-90.

Bhattacharjee RB, Singh A, Mukhopadhyay SN. 2008. Use of nitrogen-fixing bacteria as biofertiliser for non-legumes: Prospect and challenges. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 80: 199-209.

Clymo RS, TurunenJ, TolonenK. 1998. Carbon accumulation in peatland. *Oikos* 81: 368-388.

Dobbelaere S, Vanderleyden J, Okon Y. 2003. Plant growth-promoting effects of diazotrophs in the rhizosphere. *Crit. Rev. Plant Sci.* 22: 107–149.

Dobereiner J, Day JM. 1976. Associative symbiosis in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen fixing site. In Newton WE and Neyman CJ (Eds.). *Proceedings of First International Symposium on N₂ Fixation.* pp: 1467-147. Washington University Press, WA.

Glickmann E, Dessaux Y. 1995. A critical examination of the specificity of the salkowski reagent for indole compounds produced by phytopathogenic bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 61: 793-796.

Heath MC. 2000. Hypersensitive response-related death. *Plant Mol. Biol.* 44: 321-334.

Johnson DB, Schippers A. 2017. Editorial: Recent advances in acidophile microbiology: fundamentals and applications. *Front Microbiol.* 8: 428.

Kamneva SV, Muronets EM. 1999. Genetic control of the processes of interaction of bacteria with plants in associations. *Genetika.* 35: 1480–1494.

Kumar M. 2014. Bacteria involving in nitrogen fixation and their evolutionary correlation. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 3: 824-830.

Mohite B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13: 638-649.

Noor M. 2001. Pertanian Lahan Gambut: Potensi dan Kendala. Kanisius, Jakarta. 174 hal.

Patten CL, Glick BR 1996. Bacterial biosynthesis of indole-3-acetic acid. *Can. J. Microbiol.* 42: 207–220.

Philip VL and Adikkala JP. 1989. The role of indole acetic acid in the conversion of root meristems to shoot meristems in *Vanilla planifolia*. *J. Plant Physiol.* 135: 233 - 236.

- Pikovskaya RI. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Microbiol.* 17: 362-70.
- Pratiwi E, Satwika TD, Agus F. 2018. Keanekaragaman mikroba tanah gambut di bawah hutan dan di bawah perkebunan sawit di provinsi Jambi. *Jurnal Tanah dan Iklim* 42: 69-78.
- Ritung S, Wahyunto, Nugroho K, Sukarman, Hikmatullah, Suparto, Tafakresnanto C. 2011. Peta Lahan Gambut Indonesia Skala 1:250.000 (Indonesian peatland map at the scale 1:250.000). Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian, Bogor. Indonesia.
- Satyaprakash M, Nikitha T, Reddi EUB, Sadhana B, Satya VS. 2017. A review on phosphorous and phosphate solubilizing bacteria and their role in plant Nutrition. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 6:2133-2144.
- Situmorang EC, Prameswara A, Sinthya HC, Toruan-Mathius N, Liwang T. 2015. Indigenous phosphate solubilizing bacteria from peat soil for an eco-friendly biofertilizer in oil palm plantation. *KNE Publ.* 1:65-72.
- Tarshis MS, Frisch AW. 1951. Blood media for the cultivation of *Mycobacterium tuberculosis*. *Amer. J. Clinic. Pathol.* 21:101-113.
- Tsavkelova EA, Cherdyntseva TA, Netrusov AI. 2005. Auxin production by bacteria associated with orchid roots. *Microbiol.* 74: 46-53.
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI. 2006. Microbial producer of plant growth stimulators and their practical use: A review. *Appl. Biochem. Microbiol.* 42: 117-126.
- Vandeputte O, Oden S, Mol A, Vereecke D, Goethals K, El Jaziri M, Prinsen E. 2005. Biosynthesis of auxin by the Gram-positive phytopathogen *Rhodococcus fascians* is controlled by compounds specific to infected plant tissues. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:1169-1199.
- Wong WS, Tan SN, Ge L, Chen X, Yong JWH. 2015. The Importance of Phytohormones and Microbes in Biofertilizers. In Maheshwari DK. (ed.) *Bacterial Metabolites in Sustainable Agroecosystem*. pp. 105-158. Springer International Publishing.
- Zahir ZA, Arshad M, Frankenberger WT. 2004. Plant growth promoting rhizobacteria: applications and perspectives in agriculture. *Adv. Agron.* 81:96-168.
- Zou L, Wang X, Xiang Y, Zhang B, Li Y, Xiao Y, Wang J, Walmsley AR, Chen G. 2006. Elucidation of the *hrp* clusters of *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzicola* that control the hypersensitive response in nonhost tobacco and pathogenicity in susceptible host rice. *Appl. Environ. Microbiol.* 72: 6212-6224.