

ISOLASI BAKTERI *Rhizobium* DARI TUMBUHAN LEGUMINOSA YANG TUMBUH DI LAHAN BERGAMBUS

Isolation of Rhizobium From Legume That Growth In Peatland

R. DANANG SUTO PAMUNGKAS DAN MOKHAMAD IRFAN

Prodi Agroteknologi, Fakultas Pertanian dan Peternakan,
Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau
Email: mokhamadirfan@yahoo.com

ABSTRACT

*Rhizobium is a group of soil bacteria that is able to fixing nitrogens from the atmosphere through symbiosis mechanism with legumes. It has an important role as a provider of nutrients the plants. Regarding of the fact, this research was aimed to isolate the Rhizobium from root nodules of legumes in peatland areas of State Islamic University of Sultan Syarif Kasim Riau. The Rhizobium isolation was conducted in Laboratory of Pathology Entomology and Microbiology of Faculty of Agriculture and Animal Science. The root nodules of legumes were selected and sterilized using 10 % disinfectant solution for 2 minutes before isolated. The Rhizobium colonies were isolated on Nutrient Agar (NA) media. The results showed there were nine isolates of Rhizobium to be isolated. Macroscopic of the colonies showed there were eight isolates of translucent (white-milk) and one isolate was yellowish-white, with spherical on shape, flat edges, convex surface, and sticky textures of colonies. Microscopic of cells were gram-negative bacill with varies of size i.e. $0.42 \pm 0.19 \mu\text{m}$ to $1.075 \pm 0.425 \mu\text{m}$ of length and $0.25 \pm 0.03 \mu\text{m}$ to $0.6 \pm 0.15 \mu\text{m}$ in width. The Rhizobium isolates of *Clitoria laurifolia*, *Acacia sp.*, and *Albizia sp.* were three fastest in growth.*

Keywords : Legume, Peatland, Rhizobium

PENDAHULUAN

Bakteri *Rhizobium* adalah sekelompok bakteri yang bersimbiosis dengan tanaman leguminosa dan hanya dapat memfiksasi nitrogen atmosfer bila berada di dalam bintil akar tanaman leguminosa. Peran *Rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman berkaitan dengan ketersediaan hara bagi tanaman inangnya. Simbiosis ini menyebabkan bakteri *Rhizobium* dapat menambat nitrogen dari atmosfer, dan selanjutnya digunakan oleh tanaman inangnya (Sari, 2010).

Jumlah nitrogen yang difiksasi oleh asosiasi leguminosa sangat bervariasi, bergantung pada jenis leguminosa, kultivar, spesies, dan galur (strain) bakterinya (Gardner & Mitchell, 1991). Kemampuan penambatan Nitrogen pada simbiosis *Rhizobium* dan leguminosa dapat mencapai 380 kg N/ha (Peoples et al. 1995). Di Amerika sekitar 2 juta ton/ha/tahun nitrogen dapat diikat oleh bakteri pada tanaman leguminosa (Sutedjo et al., 1991). Penelitian Peoples et al. (1995) mengemukakan bahwa pada kondisi percobaan, jumlah nitrogen yang ditambat berkisar antara 1 – 380 kg N/ha (Tabel 1). Setiap kg N yang difiksasi pada bintil akar setara dengan 2,22 kg pupuk urea (kadar N urea 45%) sehingga dapat menghemat

penggunaan pupuk nitrogen sintetis (Husin, 2012).

Nitrogen merupakan suatu unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, yang berfungsi sebagai penyusun protein dan penyusun enzim. Tanaman memerlukan suplai nitrogen pada semua tingkat pertumbuhan, terutama pada awal pertumbuhan, sehingga adanya sumber N yang murah akan sangat membantu mengurangi biaya produksi. Jika unsur nitrogen terdapat dalam keadaan kurang, maka pertumbuhan dan produksi tanaman akan terganggu. (Armiadi, 2009).

Tabel 1. Perkiraan Jumlah Nitrogen yang Ditambat oleh Tanaman Leguminosa

Spesies	Jmlh N ₂ tertambat (kg N/ ha)	Umur tanaman waktu pengukuran
<i>Arachispintoi</i>	1 – 7	84 hari
<i>Calopogonium</i> spp	64 – 182	Setahun
<i>Centrosema</i> spp.	41 – 43	119 hari
<i>Centrosema</i> spp.	67 – 280	Setahun
<i>Clitoria ternatea</i>	197 – 249	190 – 195 hari
<i>Desmodium</i> spp.	24 – 380	Setahun
<i>Desmanthus virgatus</i>	193 – 228	190 – 195 hari
<i>Macroptiliumatro purpureum</i>	15 – 167	setahun
<i>Pueraria</i> spp	9 – 115	72 – 199 hari
<i>Stylosanthes</i> spp	2 – 75	63 – 77 hari
<i>Stylosanthes</i> spp	20 – 263	Setahun
<i>Zornia glabra</i>	61	119 hari

Sumber: Peoples et al. (1995)

Penelitian Nurhayati (2011) *Bradyrhizobium* asal tanah gambut dengan sangat nyata meningkatkan jumlah bintil akar, tinggi tanaman umur 5 minggu setelah tanam. Perlakuan *Bradyrhizobium* ditambah mos dan isolat mikoriza tanah gambut dapat meningkatkan pH tanah. *Bradyrhizobium*, mos dan mikoriza dalam aktivitas dan proses metabolismenya melepaskan senyawa-senyawa organik. Senyawa-senyawa organik ini berpeluang untuk mengikat kation-kation logam penyebab kemasaman tanah.

Menurut Martani *et al.* (2011) inokulasi *Rhizobium* di Indonesia sudah lama dilakukan, akan tetapi belum mendapat hasil yang maksimal. Kegagalan inokulasi disebabkan *Rhizobium* tidak dapat bertahan di lingkungan tanah masam dan mengandung material beracun, seperti Aluminium dan residu pestisida. Di samping itu sejumlah besar bakteri *Rhizobium* dapat mati karena keasaman tanah yang rendah, oleh sebab itu diperlukan penambahan inokulum bila tidak ada *Rhizobium* (Mulyadi, 2012). Keuntungan penggunaan bakteri *Rhizobium* adalah : (1) mampu meningkatkan ketersediaan unsure hara terutama N, tidak mempunyai bahaya atau efek samping, (2) efisiensi penggunaan yang dapat ditingkatkan sehingga bahaya pencemaran lingkungan dapat dihindari, (3) harganya relative murah, dan (4) teknologinya atau penerapannya relative mudah dan sederhana (Novriani, 2011).

Melihat besarnya peran bakteri *Rhizobium*, maka diperlukan isolasi kultur bakteri *Rhizobium* yang berasal dari tanaman leguminosa yang tumbuh di daerah bergambut, sehingga diharapkan kultur bakteri *Rhizobium* yang diperoleh dapat diaplikasikan untuk meningkatkan asupan nitrogen di tanah bergambut dengan nilai pH tanah rendah. Diperolehnya isolat *Rhizobium* dari tanaman leguminosa tanah bergambut, sangat memungkinkan peluang keberhasilan aplikasinya yang lebih tinggi dari pada penggunaan inokulan yang berasal dari lokasi lain (Purwaningsih, 2009). Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan eksplorasi dan isolasi bakteri *Rhizobium* dari bintil akar tumbuhan leguminosa lahan bergambut.

BAHAN DAN METODE

Penelitian ini dilaksanakan di laboratorium Patologi, Entomologi, dan Mikrobiologi (PEM) dan lahan kampus Universitas Islam Negeri Sultan Syarif Kasim Riau. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : bintil akar tumbuhan leguminosa, disinfektan (dettol), alkohol, NA, aluminium

foil, kapas, reagen pewarnaan Gram, kertas label dan aquades. Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah : lampu bunsen, mikropipet, pipet volume, gelas Beaker, tabung reaksi, pinset, autoklaf, oven, termometer, kaca preparat, cover glass, pH meter, vortex, cawan Petri, hotplat (magnetic stirrer), erlenmeyer, timbangan elektrik, laminar air flow, jarum Ose, mikroskop, kamera digital, dan cangkul.

Penelitian ini berbentuk diskriptif dengan menggunakan 4 blok yang berbeda sebagai ulangan. Masing-masing blok memiliki karakteristik berbeda baik vegetasi yang tumbuh di atasnya kondisi lingkungannya. Blok I (Lahan Gambut di sekitar Lab. Patologi, Entomologi dan Mikrobiologi dan Lab. Pemuliaan dan Genetika), Blok II (Lahan Gambut di sekitar Gedung Pusat Kegiatan Mahasiswa), Blok III (Lahan Gambut di belakang Fakultas Sains dan Teknologi) dan Blok IV (Lahan Percobaan Fakultas Pertanian dan Peternakan).

Pengambilan tumbuhan leguminosa yang digunakan dalam penelitian ini adalah semua jenis tumbuhan leguminosa liar yang tumbuh pada blok-blok yang telah ditentukan. Pengambilan bintil akar dilakukan dengan cara membongkar dan menggali tanah dari permukaan tanah sampai dengan kedalaman 15 cm sedikit demi sedikit hingga terlihat bagian akar yang memiliki bintil akar dan langsung mengukur letak kedalaman bintil akar dari permukaan tanah menggunakan meteran.

Pensterilan bintil akar tumbuhan leguminosa yang didapat dicuci bersih dengan cara mengocok 1 gram bintil akar dalam 10 ml aquades steril di dalam tabung reaksi selama 1 menit menggunakan vortex sebanyak 3 kali. Setelah bersih bintil akar disterilkan menggunakan 10 ml larutan dettol (10%, 7%, 5%, 3%, dan 1%) dengan cara memvortex masing – masing selama 2 menit, kemudian bintil akar dicuci kembali 3 kali menggunakan 10 ml aquades steril dengan cara divortex masing – masing selama 1 menit. Bintil akar yang baik dipilih dengan membelah melintang, dengan kriteria warna merah muda hingga kecoklatan di bagian tengahnya.

Isolasi bintil akar yang telah disterilkan dibelah menggunakan pinset dalam cawan petri. Cairan yang mengandung bakteri *Rhizobium* diambil menggunakan jarum ose dan dipindahkan secara aseptik ke dalam media NA dengan cara menggoreskan jarum ose membentuk zig-zag kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 2 kali 24 jam.

Pemurnian bakteri dan penyimpanan kultur koloni tunggal yang terpisah dari media kultur dianggap sebagai biakan murni. Isolat

yang diperoleh disimpan dalam tabung reaksi yang berisi medium NA miring sebanyak 1/3 bagian dari tabung reaksi (sebagai kultur murni) dan disimpan di dalam lemari pendingin dengan suhu 4 °C sebagai koleksi.

Pengamatan dilakukan secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan makroskopis meliputi identifikasi bakteri berdasarkan sifat-sifat morfologinya, yaitu warna koloni, bentuk koloni, dan tekstur koloni, sedangkan pengamatan mikroskopis adalah identifikasi bakteri di bawah mikroskop untuk melihat bentuk sel, warna Gram, dan ukuran sel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Keadaan Umum Lokasi Penelitian

Blok I. Lahan Gambut di sekitar Laboratorium PEM dan Laboratorium Pemuliaan dan Genetika. Kondisi lingkungan di lahan ini sebagian besar selalu terendam air dan hanya kering pada saat kemarau dalam waktu yang lama, hal ini dikarenakan tidak adanya drainase. Jenis tanah di lahan ini adalah tanah bergambut dengan tingkat kematangan dari tingkat kematangan fibrik sampai saprik. Beberapa vegetasi yang tumbuh seperti tenggek burung, akasia, dan tumbuhan semak seperti paku-pakuan dan kantong semar.

Blok II. Lahan Gambut di sekitar Gedung Pusat Kegiatan Mahasiswa (PKM). Kondisi lingkungan di lahan ini sebagian besar selalu terendam air dan hanya kering pada saat kemarau dalam waktu yang lama. Di sekeliling lahan ini terdapat drainase, akan tetapi tidak berfungsi. Jenis tanah di lokasi ini adalah tanah bergambut sampai gambut sedang, dengan tingkat kematangan fibrik sampai hemik. Jenis vegetasi yang tumbuh di lahan ini pepohonan dan semak belukar, seperti akasia, tenggek burung, alang - alang, dan paku-pakuan.

Blok III. Lahan Gambut di belakang Fakultas Sains dan Teknologi. Area ini tidak terdapat drainase maupun saluran air alami akan tetapi lahan ini tidak tergenang karena merupakan dataran yang lebih tinggi dari lokasi lainnya. Jenis tanah di lahan ini adalah tanah bergambut sampai gambut dangkal dengan tingkat kematangan fibrik sampai hemik dan di lahan ini masih banyak ditemukan seresah organik. Lokasi ini ditumbuhi berbagai jenis vegetasi yang didominasi oleh pohon akasia yang telah berukuran besar dan tinggi. Hal ini menyebabkan kondisi lingkungan di bawah naungan, sehingga sinar matahari hanya sedikit yang sampai pada permukaan tanah, sedangkan semak belukar didominasi oleh paku-pakuan.



Blok I (Sekitar Laboratorium PEM dan Lab. Pemuliaan dan Genetika)



Blok II (Sekitar Gedung Pusat Kegiatan Mahasiswa)



Blok III (Belakang Fakultas Sains dan Teknologi)



Blok IV (Lahan Percobaan Fakultas Pertanian dan Peternakan)

Gambar 1. Blok Lokasi Pengambilan Sampel

Faktor Lingkungan

Faktor lingkungan merupakan hal penting dalam kehidupan mikroba seperti halnya *Rhizobium*. Beberapa faktor lingkungan yang penting sebagai syarat hidup bagi mikroba, diantaranya adalah suhu, pH, bahan organik dan kelembapan. Faktor suhu dan pH

mempengaruhi aktifitas enzim, yang berkaitan dengan populasi mikroba tanah (Waluyo, 2009). Suhu menunjukkan gambaran umum energi kinetik suatu objek. Sifat fisik permukaan suatu objek menentukan keadaan suhu permukaan dan suhu di sekitarnya. Faktor lingkungan dari keempat blok dapat dilihat seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Kondisi Lingkungan Lokasi Pengambilan Sampel

Parameter	Blok I	Blok II	Blok III	Blok IV
Suhu Udara (°C)	32,2	31,6	29	35
Suhu Tanah (°C)	28,6	28,4	27,25	28,43
pH Tanah	4,72	4,46	4,35	3,94
Kadar air Tanah (%)	69,86	66,52	67,72	71,87
Pemupukan	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Ada
Pengelolaan lahan	Tidak ada	Tidak ada	Tidak ada	Ada
Drainase	Tidak ada	Kurang baik	Tidak ada	Kurang baik
Seresah organik	Sedikit	Sedang	Banyak	Sedikit
Jenis Tanah	Tanah bergambut	Tanah bergambut dan gambut dangkal	Tanah bergambut dan gambut dangkal	Tanah bergambut

Suhu udara tertinggi diperoleh di lahan percobaan Fakultas Pertanian dan Peternakan yaitu 35 °C dan suhu udara terendah diperoleh di lahan bergambut di belakang Fakultas Sains dan Teknologi yaitu 29 °C. Suhu udara ini dipengaruhi oleh vegetasi yang tumbuh di atasnya, dimana di lahan percobaan tidak terdapat pepohonan yang besar, seperti pada lahan gambut di belakang Fakultas Sains dan teknologi yang didominasi pepohonan yang berukuran cukup besar seperti akasia. Suhu tanah terendah juga diperoleh di lahan gambut di belakang Fakultas Sains dan Teknologiyaitu 27,3 °C, sedangkan suhu tanah di tiga lokasi lainnya relatif sama yaitu berkisar pada suhu 28 °C – 28,6 °C. Suhu tanah, merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan *Rhizobium* seperti yang dikemukakan Surtiningsih et al., (2009) suhu optimum pertumbuhan *Rhizobium* berkisar antara 25 °C – 30 °C.

pH tanah terendah diperoleh dari Blok IV yaitu 3,94 dan pH tertinggi diperoleh dari lahan Blok I yaitu 4,72, sesuai dengan pernyataan Agus & Subiksa (2008) bahwa keasaman tanah gambut relatif tinggi yaitu berkisar 3-5. Lahan Blok I memiliki pH tanah paling rendah, diduga karena seringnya dilakukan pemupukan menggunakan pupuk Nitrogen anorganik, seperti pernyataan Lestari (2009) bahwa penggunaan pupuk nitrogen anorganik (ammonium sulfat dan sulfur coated urea) yang terus menerus selama 20 tahun dapat menyebabkan pemasaman tanah.

3.3. Tumbuhan Leguminosa

Bakteri *Rhizobium* hanya dapat bersimbiosis pada tumbuhan leguminosa dan setiap spesies bakteri *Rhizobium* hanya efektif bersimbiosis dengan spesies tumbuhan yang khas, dengan demikian hubungannya bersifat spesifik. Infeksi dengan bakteri lain selalu gagal atau hanya menghasilkan sedikit bintil (Sutedjo et al., 1991). Tumbuhan leguminosa yang ditemukan dalam penelitian ini berjumlah 10 spesies dan hanya sembilan spesies tumbuhan leguminosa yang memiliki bintil akar. Satu tumbuhan leguminosa yang tidak ditemukan bintil akarnya adalah pohon jengkol (*Archidendron pauciflorum*). Hal ini diduga tidak adanya spesies bakteri *Rhizobium* spesifik yang bersimbiosis dengan tumbuhan *A. pauciflorum* atau karena terlalu banyaknya tumpukan serasah organik yang menyebabkan banyak mikroba lain yang tumbuh dan berkompetisi dengan *Rhizobium* sedangkan *Rhizobium* tidak tumbuh di serasah bahan organik (Sutedjo et al., 1991).

Di sisi lain, kondisi Blok III banyak ditumbuhi pepohonan besar menyebabkan sedikitnya intensitas cahaya yang sampai ke dalam tanah. Menurut Utomo (2008) kondisi gambut yang sedikit mendapat intensitas cahaya yang masuk ke dalam tanah menyebabkan kondisi oksigen tanah gambut semakin rendah. *Rhizobium* merupakan golongan bakteri aerobik yang membutuhkan oksigen sebagai syarat hidupnya. Menurut Dwidjoseputro (2005) oksigen dari udara bebas sangat penting untuk pernapasan bakteri aerob, karena proses pernapasan

bertujuan untuk membongkar zat makanan untuk menjadi energi.

Hasil penelitian Purwaningsih (2005) menyatakan bahwa kegagalan pembentukan bintil akar oleh bakteri *Rhizobium* dapat dihambat oleh zat penghambat yang dihasilkan jamur yang tumbuh berlimpah di tumpukan bahan organik (seresah). Lahan gambut di Blok III memiliki seresah organik yang cukup tebal berbanding 3 blok lainnya, sehingga sulit untuk menemukan tumbuhan leguminosa yang memiliki bintil akar atau sangat sedikit jumlah bintil akar yang efektif.

Tumbuhan *Acasia* sp. (akasia) memiliki bintil akar paling besar yang berukuran rata-rata panjang 1,3– 11 mm dan diameter 1,1 – 5,1 mm, sedangkan tumbuhan leguminosa yang memiliki bintil akar paling kecil adalah tumbuhan *P. javanica* (kacang-kacangan) yang memiliki bintil akar berukuran diameter rata-rata 0,95 – 2,7 mm. Setiap tumbuhan leguminosa memiliki bentuk dan ukuran bintil yang berbeda – beda yang dipengaruhi oleh keadaan lingkungan tempat

tumbuhnya. Karakteristik bintil akar tumbuhan leguminosa yang ditemukan dalam penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.

Pengambilan tumbuhan leguminosa yang tepat untuk diisolasi bintil akarnya adalah yang masih berada pada masa pertumbuhan (fase vegetatif). Tumbuhan leguminosa muda lebih banyak memiliki bintil akar yang efektif berbanding dengan leguminosa yang berada pada fase generatif. Tumbuhan leguminosa pada saat pertumbuhan vegetative akan lebih aktif menyerap unsur hara dan bagian akar masih dalam keadaan lunak sehingga memudahkan bakteri *Rhizobium* untuk masuk ke dalam jaringan akar dan membentuk nodul. Bintil akar efektif pada tumbuhan leguminosa tua jumlahnya menurun dan banyak yang kosong, sehingga leguminosa tua akan kekurangan suplai Nitrogen dari bakteri simbiosisnya. Tumbuhan leguminosa yang dipanen muda akan memiliki kandungan Nitrogen yang lebih tinggi dibandingkan pada saat dipanen tua (Sutedjo et al., 1991).

Tabel 3. Tumbuhan Leguminosa Hasil Penelitian

Sampel	Kedalaman Bintil Akar dari permukaan tanah (cm)	Bentuk Bintil Akar	Warna Bintil Akar	Ukuran Bintil Akar (mm)
<i>Acasia</i> sp. (Akasia)	12	Bulat, bulat panjang, bercabang	Merah kecoklatan, coklat	P = 1,3 – 11 l/d = 1,1 – 5,1
<i>M. invisa</i> (putri malu memanjat)	Permukaan tanah	Bulat panjang	Putih kecoklatan, coklat	P = 1,4 – 5,1 l/d = 0,6 – 1,1
<i>M. pudica</i> (putri malu menjalar)	Permukaan tanah	Bulat panjang	Putih kecoklatan, coklat	P = 1,6 – 5,7 l/d = 0,8 – 1,5
<i>M. vigra</i> (putri malu perdu)	3	Bulat panjang	Putih kemerahan, coklat	P = 1,4 – 4,3 l/d = 0,5 – 1,5
<i>P. javanica</i> (kacang-kacangan)	Permukaan tanah	Bulat	Putih krem, putih kecoklatan	d = 0,95 – 2,7
<i>Glycine</i> sp.	9	Bulat pipih	Putih krem, coklat	d = 0,4 – 3
<i>Albizia</i> sp.	8	Bulat	Coklat, coklat tua	d = 1 – 3,5
<i>Uraria</i> sp.	Permukaan tanah	Bulat, oval	Putih kecoklatan, coklat	P = 0,7 – 3,5 l/d = 1 – 2,5
<i>Clitoria laurifolia</i> Poir.	2	Bulat pipih	Putih krem, coklat muda	d = 0,6 – 4,1

3.4. Morfologi Koloni

Hasil isolasi bintil akar dari sembilan spesies tumbuhan leguminosa didapat sembilan isolat *Rhizobium* dengan delapan isolat yang memiliki karakteristik morfologi koloni yang sama, yaitu dengan bentuk koloni bulat (circular), tepi rata, permukaan koloni cembung (convex), dan warna koloni putih susu (semitranslucen). Satu isolat memiliki warna koloni putih kekuningan. Bentuk dan warna koloni *Rhizobium* hasil isolasi dapat dilihat pada Tabel 4.

Seluruh isolate *Rhizobium* hasil isolasi dan pemurnian mempunyai kesamaan morfologi koloni yaitu memiliki permukaan koloni cembung dengan tepi koloni rata dan

bertekstur lengket sama dengan hasil penelitian Heliati (2003) yang mendapatkan isolate *Rhizobium* dengan bentuk koloni cembung, warna putih dan putih susu dengan tekstur lengket yang merupakan ciri dari bakteri *Rhizobium* (Tabel 4). Bintil akar yang diisolasi sebagian dapat diperoleh koloni tunggal pada saat pertumbuhan pertama setelah isolasi, sedangkan sebagian lagi perlu dilakukan pemurnian ulang hingga didapatkan koloni yang terpisah untuk mendapatkan koloni tunggal (Gambar 2).

Koloni tunggal yang didapat setelah isolasi kemudian disubkultur. Hasil pengamatan selama 8 hari inkubasi, isolat dari

tumbuhan *Clitoria laurifolia* Poir. memperlihatkan pertumbuhan koloni yang sangat cepat. Ukuran koloni pada 24 jam inkubasi dapat mencapai panjang 5,3 cm dan lebar 2,9 cm sampai berukuran panjang 8,8 cm dan lebar 5,3 cm pada 8 hari inkubasi. Isolat

dari *Acasia* sp. dan *Albizia* sp. juga memperlihatkan pertumbuhan koloni yang cepat, setelah isolat dari tumbuhan *C. laurifolia* Poir. Isolat dari tumbuhan *P. javanica* dan *M. invisa* paling lambat pertumbuhannya.



Gambar 2. Hasil Isolasi dan Pemurnian Sel *Rhizobium* dari Bintil Akar Tumbuhan Leguminosa.

Tiga isolat yang berasal dari tumbuhan *C. laurifolia* Poir., *Acasia* sp., dan *Albizia* sp. sangat baik untuk dijadikan stok pembuatan biofertilizer. Pertumbuhan koloni

yang baik dan cepat dalam skala laboratorium diharapkan juga dapat terjadi saat diinokulasikan ke lapangan sebagai biofertilizer.

Tabel 4. Morfologi Koloni

No.	Kode Isolat	Morfologi Koloni			
		Bentuk	Tepi	Permukaan	Warna
1.	AC 1, 2, 3 dan 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
2.	MI 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
3.	MP 1, 2 dan 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
4.	MV 1, 2 dan 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
5.	PJ 3 dan 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih kekuningan
6.	GS1, 2, 3 dan 4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
7.	AB1 dan 2	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
8.	US3	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu
9.	CL4	Bulat	Rata	Cembung	Putih susu

Keterangan : AC = *Acasia* sp., MI = *M. invisa*, MP = *M. pudica*, MV = *M. vigra*, PJ = *P. javanica*, AB = *Albizia* sp., GS = *Glycine* sp., US = *Uraria* sp., dan CL = *Clitoria laurifolia*.

3.5. Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram bertujuan untuk membedakan bakteri ke dalam dua kelompok yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, sesuai dengan pernyataan Rostinawati (2008), yang menyatakan bahwa pewarnaan Gram digunakan untuk mengetahui morfologi sel bakteri serta untuk membedakan bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hasil

pewarnaan gram dari sembilan isolat seluruhnya berwarna merah yang merupakan ciri bakteri gram negatif dan seluruh isolat memiliki bentuk sel yang sama yaitu berbentuk batang (basil) dapat dilihat pada Tabel 5. Hal ini sesuai dengan pernyataan Manalu (2011) mengatakan bakteri *Rhizobium* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang (basil).

Tabel 5. Pewarnaan Gram dan Ukuran Rata-rata Sel *Rhizobium*

No.	Kode isolate	Pewarnaan Gram		Ukuran sel (μm)	
		Gram	Bentuk sel	Panjang	Lebar
1.	AC	Negatif	Basil	$1,08 \pm 0,43$	$0,35 \pm 0,04$
2.	MI	Negatif	Basil	$0,42 \pm 0,19$	$0,25 \pm 0,03$
3.	MP	Negatif	Basil	$1,18 \pm 0,49$	$0,37 \pm 0,04$
4.	MV	Negatif	Basil	$0,96 \pm 0,44$	$0,38 \pm 0,06$
5.	PJ	Negatif	Basil	$0,66 \pm 0,24$	$0,27 \pm 0,04$
6.	GS	Negatif	Basil	$1,05 \pm 0,51$	$0,35 \pm 0,05$
7.	AB	Negatif	Basil	$1,05 \pm 0,41$	$0,35 \pm 0,03$
8.	US	Negatif	Basil	$0,90 \pm 0,30$	$0,60 \pm 0,15$
9.	CL	Negatif	Basil	$1,05 \pm 0,30$	$0,51 \pm 0,06$

Pewarnaan gram dilakukan pada isolat murni (kultur murni) yang berumur 18 jam inkubasi dengan tujuan agar bentuk sel yang akan diamati berada pada bentuk sebenarnya,

karena semakin tua umur sel akan berubah bentuk. Dwijoseputro (2010) mengatakan bahwa bentuk tubuh (sel) bakteri dipengaruhi oleh keadaan medium dan usia bakteri.

Ukuran sel Rhizobium yang diperoleh bervariasi pada setiap isolat yang berumur 18 jam inkubasi pada saat pewarnaan kecuali dua isolat dengan kode PJ dan MI baru dapat dilakukan pewarnaan setelah berumur 48 jam karena pada saat 24 jam inkubasi belum tumbuh atau belum terlihat jelas koloninya.

Sel Rhizobium paling besar diperoleh dari tumbuhan *C. laurifolia* Poir. yaitu dengan panjang $1,05 \pm 0,3 \mu\text{m}$ dan lebar $0,51 \pm 0,06 \mu\text{m}$ dan sel terkecil diperoleh dari tumbuhan *M. invisa* yaitu panjang $0,42 \pm 0,19 \mu\text{m}$ dan lebar $0,25 \pm 0,03 \mu\text{m}$, sedikit berbeda dengan pernyataan Surtiningsih et al. (2009) bahwa secara mikroskopis sel Rhizobium berukuran panjang $0,5 - 0,9 \mu\text{m}$ dan lebar $1,2 - 3 \mu\text{m}$ di media YEMA (Yeast Ekstrakt Mannitol Agar). Hal ini diduga disebabkan oleh penggunaan media yang berbeda, di mana pada penelitian ini isolasi dan subkultur dilakukan

menggunakan media NA yang merupakan media umum untuk bakteri dan tidak menggunakan media selektif untuk Rhizobium yang menyebabkan perbedaan nutrisi yang didapatkan oleh sel Rhizobium untuk pertumbuhannya.

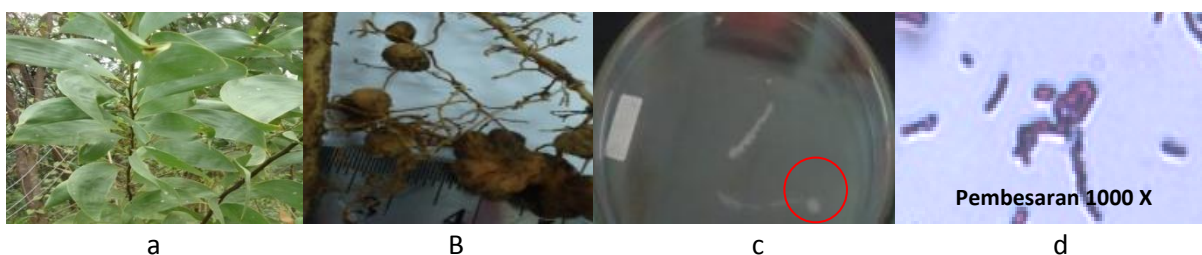
Setiap mikroba membutuhkan nutrisi yang spesifik untuk pertumbuhannya, sehingga perbedaan nutrisi yang digunakan akan mempengaruhi pertumbuhannya sehingga tidak tumbuh seperti pertumbuhan pada umumnya. Dwijoseputro (2005) menyatakan bahwa bentuk tubuh (sel) bakteri dipengaruhi oleh keadaan medium tumbuhnya, dan Sutedjo et al. (1991) menambahkan, jika terlalu lama ditumbuhkan dalam media dengan pH yang tidak sesuai dengan habitat aslinya dapat menyebabkan perubahan warna Gram pada bakteri.



Gambar 4. a) Tumbuhan *Clitoria laurifolia* Poir., b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel Rhizobium dari tumbuhan *C. laurifolia* Poir



Gambar 5. a) Tumbuhan *M. invisa*, b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel Rhizobium dari tumbuhan *M. invisa*.



Gambar 6. a) Tumbuhan *Acasia* sp., b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel Rhizobium dari tumbuhan *Acasia* sp.



Isolasi Bakteri *Rhizobium* dari Tumbuhan Leguminosa (Pamungkas dan Irfan)

Gambar 7. a) Tumbuhan *M. pudica*, b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *M. pudica*



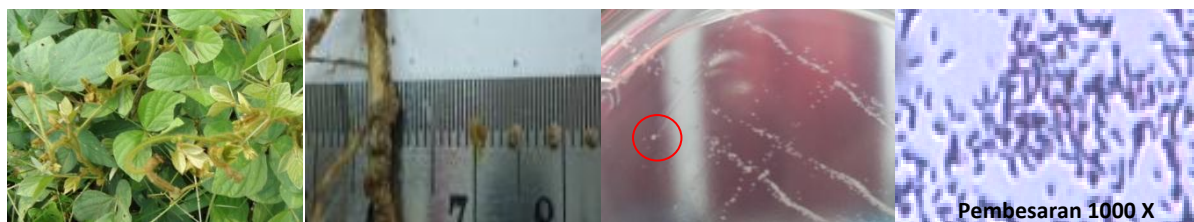
Gambar 8. a) Tumbuhan *Glycine* sp., b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *Glycine* sp



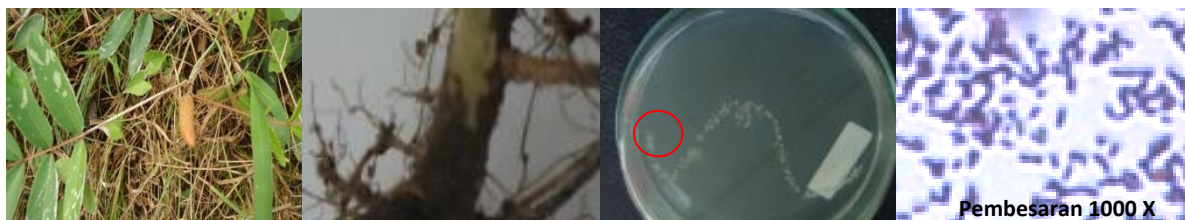
Gambar 9. a) Tumbuhan *M. vigma*, b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *M. vigma*.



Gambar 10. a) Tumbuhan *Albizia* sp., b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *Albizia* sp.



Gambar 11. a) Tumbuhan *P. javanica*, b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *P. javanica*.



Gambar 12. a) Tumbuhan *Uraria* sp., b) bintil akar, c) hasil isolasi, dan d) sel *Rhizobium* dari tumbuhan *Uraria* sp.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Jumlah isolat murni yang didapatkan berjumlah sembilan isolat yang berasal dari isolasi bintil akar sembilan spesies tumbuhan leguminosa, yaitu *Acasia* sp.,

Albizia sp., Clitoria laurifolia Poir., Glycine sp., M. invisa, M. pudica, M. vigma, P. javanica, dan Uraria sp.

2. Hasil pengamatan makroskopis, morfologi koloni berbentuk bulat, warna koloni putih susu dan putih kekuningan, tepi koloni rata, dan permukaan koloni cembung. Hasil pengamatan mikroskopis sel seluruh isolat berbentuk batang (basil) dan gram negatif. Ukuran sel bervariasi antara panjang $0,42 \pm 0,19 \mu\text{m}$ – $1,075 \pm 0,425 \mu\text{m}$ dan lebar $0,25 \pm 0,03 \mu\text{m}$ – $0,6 \pm 0,15 \mu\text{m}$.

Saran

Perlu penelitian lanjutan untuk indentifikasi isolat biakan murni dan dikembangkan sebagai inokulan (biofertilizer) pada budidaya tanaman di lahan gambut.

DAFTAR PUSTAKA

- Agus, F. dan I.G.M. Subiksa. 2008. *Lahan Gambut: Potensi untuk Pertanian dan Aspek Lingkungan*. Balai Penelitian Tanah dan World Agroforestry Centre (ICRAF). Bogor. 40 hal.
- Armiadi. 2009. Penambatan Nitrogen Secara Biologis pada Tanaman Leguminosa. *Wartazoa*, 19 (1): 23-30
- Dwidjoseputro, D. 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Djambatan. Jakarta. 214 hal.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce dan R. L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Alih Bahasa oleh H. Susilo dan Subiyanto. Universitas Indonesia. Jakarta. 428 hal.
- Heliati, I. 2003. Teknik Isolasi Rhizobium Alam dari Tanah. *Prosiding*. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor. Hal. 62-65
- Husin, M. N. 2012. Pengaruh Pupuk Organik Cair NASA terhadap Nitrogen Bintil Akar dan Produksi *Macroptilium atropurpureum*. *Agripet*, 12 (2): 20-23
- Lestari, A. P. 2009. Pengembangan Pertanian Berkelanjutan Melalui Substitusi Pupuk Anorganik dengan Pupuk Organik. *Jurnal Agronomi*, 13 (1): 38-44
- Manalu, M. H. I. 2011. Aplikasi Bakteri Penambat Nitrogen Dengan Media Tanah Gambut Terbakar Dan Tidak Terbakar Pada Semai *Acacia Crassicaarpa* Cunn. Ex-Benth. *Skripsi*. Fakultas Kehutanan Institut Pertanian Bogor. 63 hal.
- Martani, E., S. Margino, D. Indradewa and A. Supriyo. 2011. Isolation and Selection of Rhizobium Tolerant to Pesticides and Aluminum from Acid Soils in Indonesia. *J. Trop. Soils*, 16 (1) : 47-54
- Mulyadi, A. 2012. Pengaruh Pemberian Legin, Pupuk NPK (15:15:15) dan Urea pada Tanah Gambut Terhadap Kandungan N,P Total Pucuk dan Bintil Akar Kedelai (*Glycine max* (L.) Mer.). *Kaunia*, 8 (1): 21-29
- Novriani. 2011. Peranan Rhizobium dalam Meningkatkan Ketersediaan Nitrogen bagi Tanaman Kedelai. *Agronobis*, 3 (5):35-42
- Nurhayati. 2011. Pengaruh Jenis Amelioran Terhadap Efektivitas Dan Infektivitas Mikroba Pada Tanah Gambut Dengan Kedelai Sebagai Tanaman Indikator. *J. Floratek*, 6: 124 – 139
- Peoples, M.B., D.F. Herridge, And J.K. Ladha. 1995. Biological Nitrogen Fixation: An Efficient Source of Nitrogen For Sustainable Agriculture Production. *Plant and Soil*, 174: 3 – 28
- Purwaningsih, S. 2005. Isolasi, Enumerasi, dan Karakterisasi Bakteri Rhizobium Dari Tanah Kebun Biologi Wamena, Papua. *Biodiversitas*, 6(2): 82-84
- Purwaningsih, S. 2009. Populasi Bakteri Rhizobium di Tanah pada beberapa Tanaman dari Pulau Buton, Kabupaten Muna, Propinsi Sulawesi Tenggara. *J. Tanah Trop.*, 14 (1): 65-70
- Rostinawati, T. 2008. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Enzim Kitinase dari Air Laut di Perairan Pantai Pondok Bali. *Penelitian Mandiri*. Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran Jatinangor. 76 hal.
- Sari, P. 2010. Efektivitas Beberapa Formula Pupuk Hayati Rhizobium Toleran Masam pada Tanaman Kedelai di Tanah Masam Ultisol. *Skripsi*. Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. 107 hal.
- Surtiningsih, T., Farida, dan T. Nurhariyati. 2009. Biofertilisasi Bakteri Rhizobium pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* (L) Merr.). *Berk. Penel. Hayati*, 15: 31–35
- Sutedjo, M. M., A. G. Kartasapoetra, dan RD. S. Sastroatmodjo. 1991. *Mikrobiologi Tanah*. PT. Rineka Cipta. Jakarta. 446 hal.
- Utomo, B. 2008. *Eksplorasi Fungi pada Tanah Gambut yang Berada pada Lapis Fibrik, Hemik, dan Saprik*. Media Unika No. 73 edisi ke 4
- Waluyo. 2009. *Mikrobiologi Lingkungan*. UMM Press. Malang. 87 hal.

JURNAL AGROTEKNOLOGI

Journal of Agrotechnology

RESPON PERTUMBUHAN DAN HASIL TANAMAN SELEDRI TERHADAP NUTRISI DAN NAUNGAN MENGGUNAKAN SISTEM HIDROPONIK RAKIT APUNG <i>Growth and Production Response of Celery on nutrition and shading rate Using Floating Hydroponics System</i> Mercy Bientri Yunindanova, Linayanti Darsana dan Ardianto Pradana Putra.....	1 - 8
PERTUMBUHAN PADI GOGO PADA MEDIUM ULTISOL DENGAN APLIKASI BIOCHAR DAN ASAP CAIR <i>Application of Biochar dan Liquid Smoke to the Growth of Upland Rice (Oryza sativa. L) on Ultisol Medium</i> John Ivan Ndruru, Nelvia dan Adiwirman	9 -16
PENGGUNAAN ATRAKTAN ASAM KLOOROGENAT PADA PERANGKAP DALAM MENGENDALIKAN PBKo (<i>Hypothenemus hampei</i> Ferr.) PADA PERKEBUNAN KOPI DI KABUPATEN DAIRI <i>The Utilization of Chlorogenic Acid Attractant in Traps to Controlling PBKo (Hypothenemus hampei Ferr.) on Coffee Plantation in Dairi</i> M Mustain Aziz, Ameilia Zuliyanti Siregar dan Hasanuddin	17 – 22
SELEKSI BEBERAPA GENOTIPE PADI SAWAH LOKAL (<i>Oryza sativa</i> L.) TERHADAP CEKAMAN KEKERINGAN MENGGUNAKAN POLYETHYLENE GLYCOL (PEG) PADA FASE PERKECAMBAHAN <i>Selection of Many Genotypes the Rice Paddy Local (Oryza sativa L.) Against Drought Stress Using Polyethylene Glycol (PEG) in the Phase of Germination</i> Shinta Sawitri, Rabbana Saragih dan Ervina Ariyanti	23 - 30
ISOLASI BAKTERI Rhizobium DARI TUMBUHAN LEGUMINOSA YANG TUMBUH DI LAHAN BERGAMBUS <i>Isolation of Rhizobium From Legume That Growth In Peatland</i> R. Danang Suto Pamungkas dan M. Irfan	31 - 40
UJI PESTISIDA NABATI SIRIH HUTAN (<i>Piper aduncum</i> L.) TERHADAP LARVA KUMBANG TANDUK <i>Oryctes rhinoceros</i> L. PADA TANAMAN KELAPA SAWIT <i>Test of Piper Beetle Forest (Piper aduncum L.) Against The Larvae Horn Beetle Oryctes rhinoceros L. On Palm Oil Crop</i> Joni Irawan, Rusli Rustam dan Hafiz Fauzana.....	41 - 50