

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 Aktivasi kultur bakteri pelarut fosfat dan aktinomisetes asal tanah gambut Riau

Ada 45 kultur koleksi bakteri dan aktinomisetes hasil dari penelitian sebelumnya disimpan (preservasi) di dalam stok kultur gliserol. Masing-masing bakteri yang tersimpan di tumbuhkan kembali ke dalam medium Nutrien Broth (NB) dan Nutrien Agar (NA) untuk diremajakan. Sedangkan isolat aktinomisetes diremajakan dengan menumbuhkan ke medium SCB dan SCA (Kunster and William 1964). Tabel 1 menunjukkan isolat yang disimpan (preservasi) di dalam stok kultur gliserol digunakan pada penelitian ini.

Tabel 1. Isolat bakteri pelarut fosfat dan aktinomisetes yang tersimpan di dalam stok gliserol selama 5 tahun yan disimpan pada refrigerator.

No.	Aktinomisetes	No.	Bakteri pelarut fosfat
1.	L1.1	26	GGO ₁
2.	L1.2	27	GGO ₂
3.	L1.3	28	GGO ₃
4.	L1.5	29	GGO ₄
5.	L1.7	30	GGO ₅
6.	L1.8	31	GGO ₆
7.	L121	32	AGO ₁
8.	L223	33	AGO ₂
9.	L225	34	GGH1
10.	L311	35	GGH2
11.	L313	36	GGH3
12.	L321	37	GGH4
13.	L421	38	GGH5
14.	L513	39	GGH6
15.	MH11	40	GGH7

Sambungan.....			
16	MH23	41	AGH1
17	SM11	42	AGH2
18	SM12	43	AGH3
19	SM13	44	AGH4
20	SM14	45	AGH5
21	SM15	Ket:	L = Langkai isolat ke-n
22	SM21		MH =Merempan Hilir isolat ke-n
23	SM32		SM = Sungai Mempura isolat ke-n
24	SM111		GGO _n = Gambut Garo isolat ke-n
25	SM113		AGO _n = Andisol Garo isolat ke-n
			GGH _n = Gambut Galuh isolat ke-n
			AGH _n = Andisol Galuh isolat ke-n

Isolat-isolat di atas sebagai sumber biodiversitas khususnya indigenous dari tanah gambut di Riau, yang berguna bagi pertanian dan industri untuk masa depan. Mikroba tersebut, di samping beragam jenisnya juga sangat mudah mengalami perubahan sifat sehingga menjadi strain baru yang berbeda dengan aslinya sehingga perlu penanganan yang tepat.

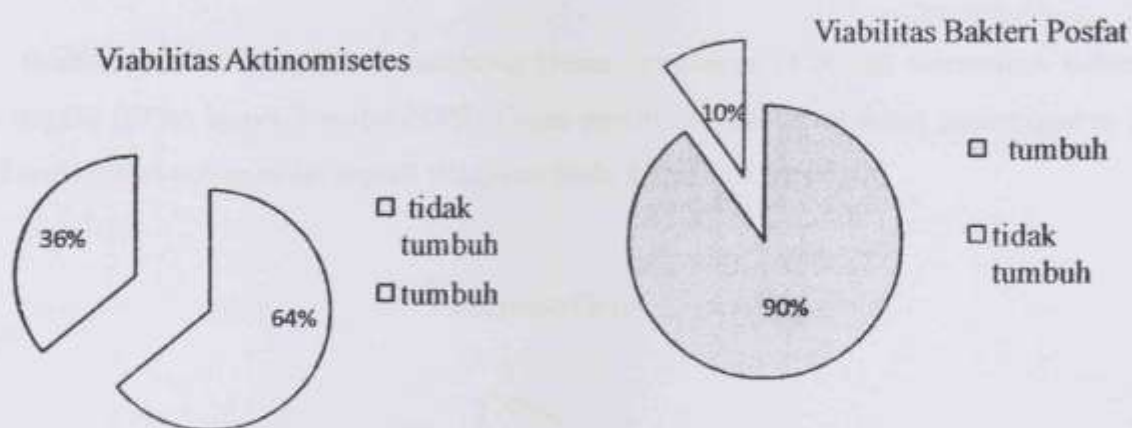
5.2 Viabilitas (kemampuan tumbuh) aktinomisetes dan bakteri pelarut fosfat yang disimpan di dalam stok gliserol selama 5 tahun.

Pemeliharaan mikroorganisme merupakan salah satu kunci penting di bidang mikrobiologi. Mikroorganisme, baik bakteri, jamur dan aktinomisetes jika tidak mendapatkan pemeliharaan yang baik akan rusak. Kerusakan tersebut meliputi penurunan viabilitas maupun stabilitas sel bahkan suatu mikroorganisme akan kehilangan potensinya apabila tidak ditangani secara serius (Kusmiati dan Priadi 2003). Pada penelitian ini, pemeliharaan isolat aktinomisetes dan bakteria di dalam gliserol 20% yang disimpan pada suhu 0°C selama 5 tahun. Tabel 2 menunjukkan viabilitas aktinomisetes dan isolat bakteri pelarut fosfat yang memiliki kemampuan tumbuh kembali. Isolat aktinomisetes yang dapat ditumbuhkan kembali ada 9 isolat yaitu L1.1, L1.2, L1.8, L121, L313, L421, SM11, SM13, SM111 dan 6 isolat bakteri pelarut fosfat yaitu AGO₂, GGH5, GGH7, AGH2, AGH3, AGH5.

Tabel 2. Viabilitas (kemampuan tumbuh) aktinomisetes dan bakteri pelarut fosfat yang disimpan di dalam stok gliserol selama 5 tahun.

No.	Aktinomisetes	Viabilitas (kemampuan tumbuh)	No.	Bakteri pelarut fosfat	Viabilitas (kemampuan tumbuh)
1.	L11	+	26	GGO ₁	+
2.	L12	+	27	GGO ₂	+
3.	L13		28	GGO ₃	+
4.	L15	nd	29	GGO ₄	+
5.	L17		30	GGO ₅	+
6.	L18	+	31	GGO ₆	+
7.	L121	+	32	AGO ₁	+
8.	L223	nd	33	AGO ₂	+
9.	L225		34	GGH1	
10.	L311	nd	35	GGH2	+
11.	L313	+	36	GGH3	
12.	L321		37	GGH4	nd
13.	L421	+	38	GGH5	+
14.	L513		39	GGH6	+
15.	MH11	nd	40	GGH7	+
16.	MH23		41	AGH1	+
17.	SM11	+	42	AGH2	+
18.	SM12		43	AGH3	+
19.	SM13	+	44	AGH4	
20.	SM14	nd	45	AGH5	+
21.	SM15		Ket: + = tumbuh nd= <i>not yet pure</i> □: belum tumbuh		
22.	SM21	nd			
23.	SM32	nd			
24.	SM111	+			
25.	SM113	nd			

Hasil viabilitas isolat bakteri fosfat yang diuji didapatkan 90% yang tumbuh setelah dilakukan peremajaan sedangkan untuk isolat aktinomisetes viabilitas sebesar 36%. Viabilitas isolat bakteri fosfat lebih tinggi berbanding aktinomisetes seperti pada Gambar 1. Menurut Malik (1991) ada beberapa faktor yang dapat mempengaruhi viabilitas dan stabilitas sel bakteri selama proses kriopreservasi. Di antaranya adalah terjadinya dehidrasi dan ketidakseimbangan osmotik yang dapat disebabkan oleh perubahan konsentrasi garam-garam dan metabolit lain. Terjadinya perubahan membran seluler bakteri pada saat proses pendinginan melalui pembentukan kristal es yang besar dapat dicegah dengan menggunakan bahan-bahan krioprotektan seperti dimetilsulfoksida dan gliserol.



Gambar 1. Perbandingan viabilitas aktinomisetes dan bakteri yang tumbuh dan tidak tumbuh setelah kultur disimpan di dalam gliserol selama 6 tahun.

Salah satu syarat untuk keberhasilan tingkat produksi pada industri yang memanfaatkan mikroorganisme ditentukan oleh galur potensial yang stabil. Oleh karena itu penggunaan mikroorganisme yang unggul dan stabil akan semakin meningkat di masa yang akan datang. Untuk menjaga stabilitas suatu galur mikroorganisme diperlukan pemeliharaan kultur yang efektif dengan segala prasyarat yang diperlukan. Kepentingan pemeliharaan kultur di laboratorium industri antara lain sangat berguna untuk proses produksi. Sedangkan keberhasilan pemeliharaan kultur mikroorganisme bagi peneliti sangat berguna untuk mempelajari galur tertentu hingga tahap molekuler. Menurut Machmud (2001) preservasi jangka panjang dilakukan dalam kaitannya dengan koleksi dan konservasi plasma nutfah

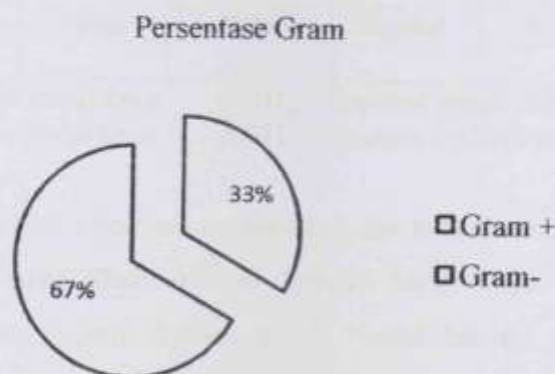
mikroba, sehingga apabila suatu saat diperlukan, dapat diperoleh kembali atau dalam keadaan tersedia.

Menurut Malik (1992) stabilitas kultur yang disimpan sangat penting diantaranya tingkat kelembaban atau masuknya oksigen pada kultur yang disimpan, seperti secara kriopreservasi dapat menyebabkan ketidakstabilan kultur karena higroskopis dan rusak karena lembap. Penyimpanan kultur bakteri pada temperatur penyimpanan yang lebih tinggi akan mempercepat kultur yang disimpan terdegradasi, sedangkan penyimpanan pada temperatur yang rendah memperlambat tingkat kematian sel bakteri.

5.3 Karakterisasi dan uji aktivitas fosfat pada bakteri dan aktinomisetes

5.3.1 Karakterisasi dan uji aktivitas fosfat pada bakteri

Berdasarkan karakteristik pewarnaan Gram, umumnya (4 isolat) merupakan bakteri Gram negatif (67%) hanya 2 isolat (33%) Gram positif seperti ditunjukkan pada Gambar 2. Hasil karakterisasi setiap isolat seperti disajikan pada Tabel 3 di bawah ini.



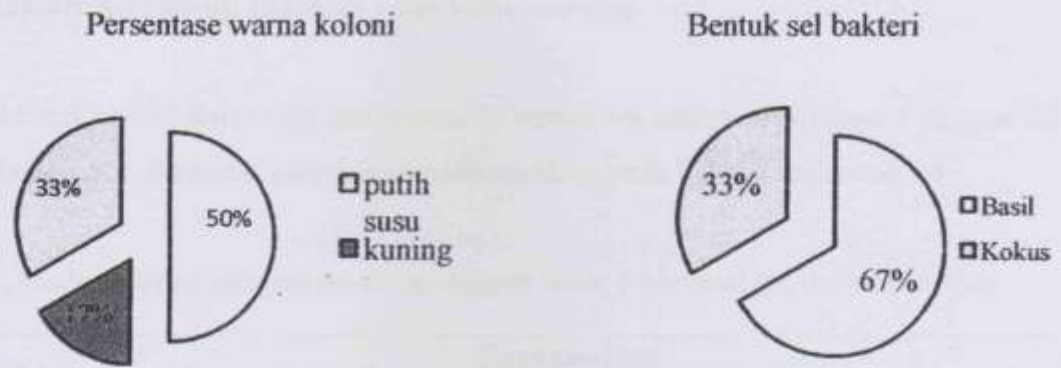
Gambar 2. Persentase karakteristik antara Gram negatif dan Gram positif antara bakteri pelarut fosfat

Tabel 3. Karakterisasi bakteri pelarut fosfat indigenous tanah gambut Riau

No.	Kode Isolat	Makroskopis					Mikroskopis	
		Morfologi Koloni					Sel	Gram
		Bentuk	Warna	Tepian	Elevasi	Konsistensi		
1.	GGO ₁	nd						
2.	GGO ₆	nd						
3.	AGO ₂	Tak beraturan	putih susu	berombak	timbul	lengket	basil	+
4.	GGH ₂	nd						
5.	GGH ₄	nd						
6.	GGH ₅	bundar dg tepian kerang	krem	berombak	timbul	lengket	kokus	-
7.	GGH ₆	nd						
8.	GGH ₇	bundar	putih susu	licin	datar	lengket	basil	-
9.	AGH ₂	bundar	putih susu	licin	datar	lengket	basil	-
10.	AGH ₃	bundar dg tepian kerang	kuning	licin	timbul	lengket	kokus	+
11.	AGH ₅	bundar	krem	licin	timbul	lengket	basil	-

Ket. GGO_n = Gambut Garo isolat ke-n GGH_n = Gambut galuh isolat ke-n
 AGO_n = Andisol Garo isolat ke-n AGH_n = Andisol Galuh isolat ke-n

Bano dan Mussarat (2003) berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri pelarut fosfat dari tanah pertanian yaitu *Rhizobium* sp. Dengan karakteristik morfologi sel bundar berbentuk batang dan Gram negatif. Sebanyak 6 isolat bakteri yang mampu tumbuh mayoritas memiliki warna putih susu yaitu 50%, berwarna krem sebanyak 33% dan kuning hanya 17%. Umumnya sel bakteri kebanyakan berbentuk basil yaitu 67% dan berbentuk kokus sebanyak 33% seperti ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Persentase warna koloni dan bentuk sel dari isolat bakteri pelarut fosfat asal tanah gambut Riau

Menurut Alfiati (2005) bakteri pelarut fosfat umumnya dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Citrobacter* dan *Enterobacter*. Menurut Tilak *et al.* (2005) bakteri yang paling efisien dalam melarutkan fosfat yaitu dari genus *Bacillus* dan *Pseudomonas*. Spesies dari genus *Bacillus* seperti *Bacillus brevis*, *B. cereus*, *B. circulans*, *B. firmus*, *B. licheniformis*, *B. megaterium*, *B. mesentericus*, *B. mycoides*, *B. polymyxa*, *B. pumilis*, *B. pulvifaciens* dan *B. subtilis*. Spesies dari genus *Pseudomonas* meliputi *Pseudomonas striata*, *P. cissicola*, *P. fluorescens*, *P. pinophilum*, *P. putida*, *P. syringae*, *P. aeruginosa*, *P. putrefaciens* dan *P. stutzeri*. Salah satu pertumbuhan bakteri pelarut fosfat pada medium Pikovskaya agar dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 4. Pertumbuhan bakteri pelarut fosfat pada medium Pikovskaya agar dengan waktu inkubasi selama 3 hari pada suhu ruang.

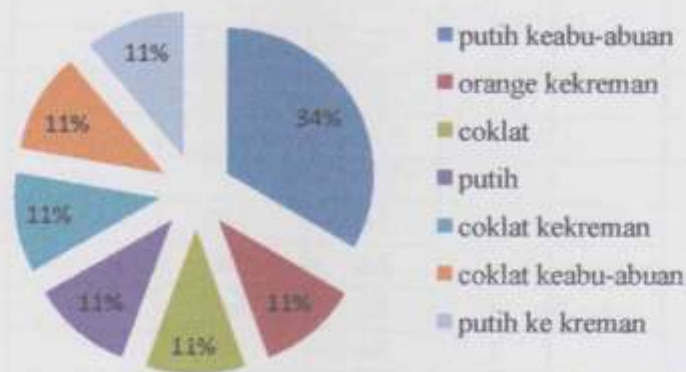
5.3.2 Karakterisasi dan uji aktivitas pada aktinomisetes

Hasil karakterisasi dari isolat aktinomisetes semuanya adalah Gram positif dengan sel berbentuk filamen. Karakteristik secara umum ditunjukkan pada Tabel 4. di bawah ini.

Tabel 4. Karakterisasi isolat indigenous aktinomisetes umur 8 hari asal tanah gambut Riau

No.	Kode Isolat	Karakterisasi			
		Bentuk koloni	Tepian	Elevasi	Warna
1	L11	bulat	licin	seperti tombol	putih keabu-abuan
2	L12	bulat	berombak	timbul	orange ke krem
3	L15	nd			
4	L18	bulat	licin	timbul	coklat
5	L121	bulat	licin	timbul	putih
6	L223	nd			
7	L311	nd			
8	L313	bulat	berombak	timbul	putih abu-abu
9	L421	bulat	licin	cembung	putih keabu-abuan
10	MH11	nd			
11	SM 1.1	bulat konsentris	berombak	cembung mencengkeram ke dalam medium	putih kekrem
12	SM 1.3	bulat	licin	cembung	cokelat keabuan
13	SM 1.4	nd			
14	SM21	nd			
15	SM32	nd			
16	SM111	bulat	berombak	cembung	coklat keputihan

Hasil karakterisasi morfologi dari aktinomisetes diketahui bahwa isolat memiliki keragaman yang tinggi yang ditandai dengan warna isolat yang beragam. Warna yang dominan pada koloni aktinomisetes adalah putih keabu-abuan (33%) seperti ditunjukkan pada grafik pada Gambar 5. Sejalan dengan penelitian Sharma et.al (2014) hasil dari 26 koloni aktinomisetes yang diuji memiliki miselia substrat dan berbagai macam warna yaitu miselium aerial berwarna putih (57,6%), warna coklat (11,5%), warna abu-abu (7,6%), warna kuning (7,6%), warna hijau (3,8%) dan warna oren (3,8%). Isolat warna putih lebih dominan yaitu (57,6% dari total isolat).



Gambar 5. Keragaman warna isolat aktinomisetes indigenous asal tanah gambut Riau

Hasil uji isolat aktinomisetes pada berbagai jamur dan bakteri uji didapati aktivitasnya dalam menghasilkan enzim protease dan fosfatase disamping memiliki daya hambat terhadap jamur *R.solani*, *S.rolfsii*, *B.subtilis*, *S.aureus*, *S.aureus*, *E.coli*, *Pseudomonas* sp seperti pada Tabel 5.

Tabel 5. Aktivitas isolat aktinomisetes dan daya hambat terhadap jamur dan bakteri

No.	Kode Isolat	Proteolitik	Aktivitas fosfatase	Jamur uji		Bakteri Uji			
				<i>R.solani</i>	<i>S.rolfsii</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>	<i>Pseudomonas</i> sp.
1	L11	-	+	-	-				
2	L12	-	-	-	+				
3	L13	-	-	-	-				
4	L15	+	-	-	-				
5	L17	-	-	nd	nd				
6	L18	+	+	-	-				
7	L121	-	+	-	-				
8	L223	+	-	+	-				
9	L225	-	-	+	+				
10	L311	-	-	+	+				

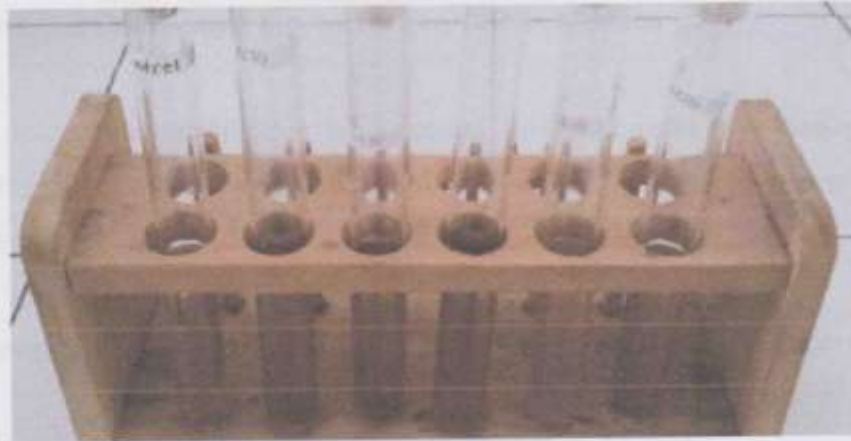
11	L313	+	+	+	+				
12	L321	+	-	-	-				
13	L421	-	-	+	+				
14	L513	-	-	-	+				
15	MH11	-	-	-	-				
16	MH23	-	-	-	-				
17	SM11	+	+	nd	nd	-	+	-	-
18	SM12	+	-	nd	nd	+	+	-	+
19	SM13	-	-	nd	nd	+	+	+	+
20	SM14	-	-	nd	nd	+	-	-	+
21	SM15	-	-	nd	nd	+	-	+	+
22	SM21	-	-	nd	nd	+	-	+	-
23	SM32	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd
24	SM111	+	+	nd	nd	nd	nd	nd	nd
25	SM113	-	-	nd	nd	nd	nd	nd	nd

Ket: tidak diamati

Hasil penelitian Varghese (2012) didapati isolat aktinomisetes melihat aktivitas antimikrobanya dengan menumbuhkan dalam medium nutrient agar menggunakan metode *cross streak* terhadap 5 strain bakteri *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Proteus vulgaris*.

5.4 Produksi Hormon Asam Indol Asetat (IAA) oleh Bakteri Pelarut Fosfat secara Kualitatif

Koleksi bakteri pelarut fosfat yang di uji mampu menghasilkan hormon IAA dengan kadar yang bervariasi yang ditandai dengan perubahan intensitas warna yang berbeda. Isolat bakteri pelarut fosfat sudah dilihat kemampuannya dalam menghasilkan IAA dengan menumbuhkan pada medium NB yang ditambahkan triptopan seperti pada Gambar 6.



Gambar 6. Produksi IAA oleh bakteri AGH1, AGH3, GGH2, GGH1, GGH5

Semua isolat bakteri fosfat yang telah diujikan ini menunjukkan kemampuan dalam menghasilkan IAA. Perlu dilakukan uji lanjut untuk mengetahui kemampuan masing-masing isolat dalam memproduksi IAA secara kuantitatif. Hasil penelitian sebelumnya, beberapa jenis bakteri pelarut fosfat yang mampu memproduksi zat pengatur pertumbuhan, diantaranya *Bacillus* sp. yang mampu mensintesis IAA (Thakuria *et al.* 2004) dan giberelin (Joo *et al.* 2004). *Pseudomonas fluorescens* selain menghasilkan IAA (Pattern & Glick 2002) tetapi juga mampu menghasilkan sitokinin (Garcia & Nelson 2004). IAA selain berperan dalam meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman, ternyata juga berperan dalam proses perkecambahan dengan meningkatkan tinggi, panjang akar dan berat kecambah jagung (Khairani 2009). Pemanfaatan *P. putida* mampu meningkatkan panjang akar selama proses perkecambahan biji kanola (Caron *et al.* 1995), *B. licheniformis* dan *B. pumillus* mampu meningkatkan perkecambahan benih tomat dan cabai (Garcia *et al.* 2004). Menurut Thakuria *et al.*, (2004) perbedaan produksi IAA dari berbagai rizo-bakteri diduga bergantung pada isolat yang diuji dan kemampuan masing-masing isolat dalam mengkolonisasi perakaran tanaman.

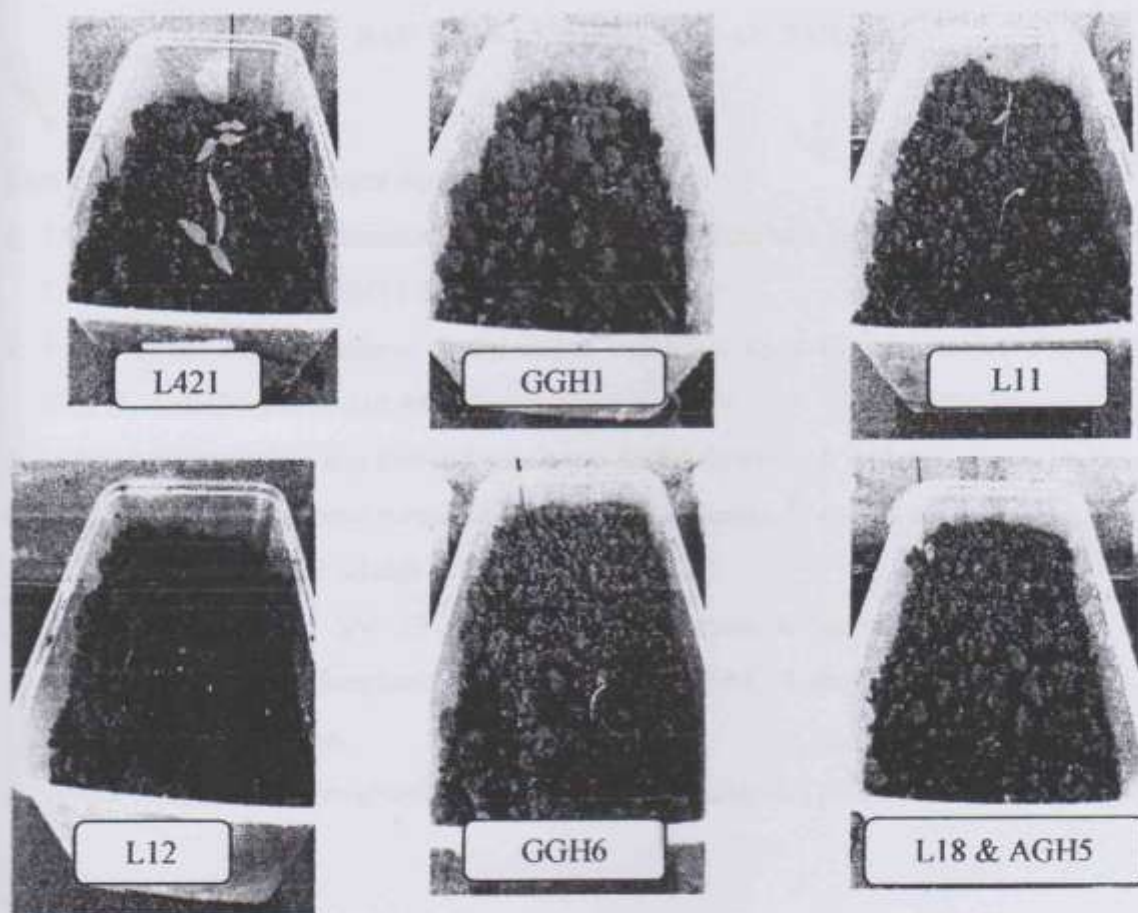
5.5 Perkecambahan Biji Cabe dengan Pemberian Konsortium Mikroba

Hasil uji kecambah dalam skala laboratorium diketahui masing-masing perlakuan memberikan kemampuan perkecambahan yang berbeda-beda setelah diinkubasi selama 7 hari yang ditunjukkan pada Tabel 6.

Tabel 6. Kemampuan perkecambahan benih cabe setelah direndam dengan isolat uji

No.	Perlakuan	% Perkecambahan
1.	L421	22
2.	L11	11
3.	L12	-
4.	GGH1	-
5.	GGH6	6
6	GGH3	11
7	L18+AGH5	-

Pada penelitian ini isolat L11, L18, GGH1, GGH6 dan AGH5 merupakan isolat aktinomisetes dan bakteri yang diketahui memiliki kemampuan dalam menghidrolisis fosfat. Isolat L12 memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *S. rolfsii*, dan isolat L421 tahan terhadap *R.solani* dan *S. rolfsii* seperti ditunjukkan pada Tabel 5. Uji perkecambahan dengan masa inkubasi 7 hari belum menunjukkan semua benih uji mampu berkecambah seperti dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 7. Uji perkecambahan benih cabe setelah direndam mikroba uji yang ditumbuhkan selama 7 hari.

Dari hasil ini perlu dilakukan pengujian dengan memperpanjang masa perendaman benih dengan mikroba uji dan memperpanjang masa perkecambahan. Hasil penelitian Sutariati *et al* (2006) perlakuan benih dengan berbagai isolat rizo-bakteri memberikan dampak positif terhadap perkecambahan benih dengan masa perkecambahan cabe normal memerlukan waktu 14 hari.