

IDENTIFIKASI BAKTERI PADA BINTIL AKAR AKTIF DAN TIDAK AKTIF SERTA RHIZOSFER TANAMAN KACANG PANJANG

Oktavia Dwi Hartanti¹, Bernadetta Octavia²

Departemen Pendidikan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Yogyakarta

*email korespondensi: oktavia5678fmipa.2018@student.uny.ac.id

Abstrak. Rendahnya kandungan N dalam tanah dapat ditangani dengan memanfaatkan mikroba tanah penambat N yang memiliki kemampuan menambat nitrogen di udara dan berguna sebagai penyedia unsur hara dalam tanah sehingga nantinya tersedia untuk tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil isolasi bakteri, karakteristik isolat bakteri, dan perbedaan keanekaragaman bakteri dari bintil akar aktif dan tidak aktif serta rhizosfer tanaman kacang panjang. Jenis penelitian yang dilakukan yaitu deskriptif eksploratif. Sampel bintil akar dan rhizosfer diambil di sawah Dusun Blawong II. Dan penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY. Karakterisasi fenotipik dilakukan dengan uji morfologi koloni, morfologi sel, dan uji fisiologis (biokimiawi). Identifikasi bakteri dilakukan dengan metode *profile matching*, untuk mengetahui indeks similaritasnya dengan genera bakteri acuan. Dari hasil penelitian diperoleh total 14 isolat murni yang memiliki karakteristik yang beragam. Dari hasil identifikasi terdapat 6 genera bakteri yang diperoleh yaitu genera *Neisseria* pada sampel bintil akar tidak aktif dan rhizosfer, *Rhizobium* pada sampel rhizosfer, *Azomonas* pada sampel bintil akar aktif dan rhizosfer, *Mesorhizobium* pada sampel bintil akar tidak aktif, *Streptococcus* pada sampel bintil akar tidak aktif dan rhizosfer, serta *Staphylococcus* pada sampel bintil akar aktif.

Kata Kunci: *bintil akar, rhizosfer, penambat N, kacang panjang, identifikasi*

Abstract. *The low N content in the soil can be handled by utilizing N-fixing soil microbes which have the ability to fix nitrogen in the air and are useful as a provider of nutrients in the soil so that later they are available to plants. The purpose of this study was to determine the results of bacterial isolation, the characteristics of bacterial isolates, and differences in the diversity of bacteria from active and inactive root nodules and the rhizosphere of long bean plants. This type of research is descriptive explorative. Root nodule and rhizosphere samples were taken in the rice fields of Dusun Blawong II. And the research was conducted at the Laboratory of Microbiology FMIPA UNY. Phenotypic characterization was carried out by testing colony morphology, cell morphology, and physiological (biochemical) tests. Identification of bacteria was carried out using the profile matching method, to determine the index of similarity with the reference bacterial genera. From the research results obtained a total of 14 pure isolates that have various characteristics. From the identification results, there were 6 genera of bacteria obtained, namely *Neisseria* genera in inactive root nodule and rhizosphere samples, *Rhizobium* in rhizosphere samples, *Azomonas* in active root nodule and rhizosphere samples, *Mesorhizobium* in inactive root nodule samples, *Streptococcus* in inactive root nodule samples and rhizosphere, as well as *Staphylococcus* in active root nodule samples.*

Keywords: *root nodul, rhizosphere, N fixation, long bean, identification*

PENDAHULUAN

Nitrogen merupakan salah satu dari enam nutrisi makro yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman (Mpapa, 2016). Nitrogen dibutuhkan tanaman dalam jumlah besar terutama pada fase vegetatif (Desire *et al.*, 2017). Pada lahan kering yang mudah tererosi, sering terjadi kehilangan unsur hara karena adanya proses pencucian (*leaching*) yang menyebabkan unsur hara terbawa ke bagian dalam tanah. Sehingga pada tanah kering biasanya memiliki jumlah kandungan nitrogen yang terbatas (Suciatmih, 2006 dalam Agisti *et al.*, 2014). Di udara terdapat sekitar 78% - 80% N, tetapi yang secara langsung dapat digunakan oleh tanaman hanya sedikit karena berbentuk dinitrogen (N₂) yang tidak dapat diserap langsung oleh tanaman. Tanaman mampu menyerap nitrogen dalam bentuk amonium (NH₄⁺) dan nitrat (NO₃⁻) yang jumlahnya terbatas dalam tanah (Tando 2018).

Salah satu upaya untuk menangani persoalan tersebut adalah dengan memanfaatkan kelompok mikroba tanah yang memiliki kemampuan menambat nitrogen di udara dan berguna sebagai penyedia unsur hara dalam tanah sehingga nantinya tersedia untuk tanaman (Simanungkalit dkk, 2006 dalam Permatasari dan Tutik, 2014). Rhizobakteri merupakan salah satu mikroba tanah dan merupakan bakteri penambat nitrogen yang memiliki kemampuan meningkatkan ketersediaan N dalam tanah bagi tanaman. Rhizobakteri hidup di daerah perakaran atau rhizosfer (Rachmawati & Retnaningrum, 2013).

Tanaman legum memiliki bintil akar yang mampu bersimbiosis dengan bakteri penambat N₂ dari udara (Hutasoit *et al.*, 2017). Kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) merupakan salah satu tanaman legum yang banyak di tanam di Indonesia dan merupakan tanaman legum yang dapat dimanfaatkan untuk menambah ketersediaan nitrogen dalam tanah. Akar dari tanaman ini memiliki bintil akar yang mampu bersimbiosis dengan bakteri penambat N₂ (Ikhsani *et al.*, 2018). Kacang panjang dapat menghasilkan 198 kg bintil akar per tahun atau setara dengan 400 kg pupuk urea (Mandiri, 2011).

Penelitian yang telah dilakukan oleh Pervin *et al.*, (2017) menemukan bakteri rhizobia yang diisolasi dari bintil akar tanaman *Lablab purpureus* dan *Vigna sinensis* L. Namun hanya memakai sampel bintil saja tidak memisahkan anatara sampel bintil akar aktif dan tidak aktif serta rhizosfer akarnya. Dan hanya sebatas mengkaji tentang karakterisasi bakterinya saja dan tidak dilanjutkan dengan identifikasi bakteri yang diperoleh.

Penelitian mengenai perbedaan keanekaragaman genera bakteri yang ada pada bintil akar aktif dan tidak aktif serta rhizosfer tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) belum banyak dilakukan, terlebih di Indonesia. Sehingga informasi tersebut belum tersedia, hal ini mendasari perlu untuk dilakukannya penelitian tersebut.

METODE

Jenis penelitian ini adalah deskriptif eksploratif. Penelitian dilaksanakan mulai dari bulan Januari–Juni 2022. Sampel bintil akar dan rhizosfer diambil dari sawah yang berlokasi di Dusun Blawong II. Serta isolasi dan karakterisasi bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UNY.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu : timbangan analitik, *hot plate* dan *magnetic stirrer*, *autoclave*, oven, *Laminar Air Flow*, inkubator, forcep, pinset, erlenmeyer, cawan petri, mikropipet dan tip, drygalski, *vortex*, tabung reaksi beserta rak, lampu bunsen, jarum ose, jarum tusuk, tabung reaksi beserta rak, kertas hisap, kertas saring, batang gelas, gelas beaker, pipet ukur, gelas ukur, gelas benda, gelas penutup, thermometer, kertas payung, karet gelang, dan *plastic wrap*, korek api, aluminium foil, pH stik, plastik, dan mikroskop.

Bahan yang dibutuhkan yaitu bintil akar aktif maupun tidak aktif dari tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.), tanah yang melekat pada akar dari tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) atau daerah rhizosfer akar, *Congo red*, *Yeast Extract Agar* (Oxoid), Mannitol, media *Nutrient Agar* (Merck), media *Nutrient Broth* (Merck), *Sulfate Indol Motility* (Oxoid), *Simmon's*

Citrate Agar (Oxoid), *Nutrient Gelatin* (Oxoid), akuades, *Malachite Green*, Gram A (Kristal Violet), Gram B (Lugol), Gram C (Etanol 95%), Gram D (Safranin), glukosa cair, sukrosa cair, laktosa cair, maltosa cair, 4% Sodium Hypochloride, 3% , Hidrogen Peroksida, HCl, NaOH, dan alkohol 70%.

Sterilisasi Bintil Akar metode ini merupakan modifikasi dari Heliati (2003), Isolasi Sampel Bintil Akar. Isolasi bintil akar dilakukan dengan menyeleksi bintil akar aktif dan tidak aktif. Bintil akar yang aktif berwarna merah muda - merah, atau kecoklatan sedangkan bintil akar yang tidak aktif berwarna putih keabu abuan (Saraswati *et al.*, 2007). Isolasi Sampel Rhizosfer tanaman kacang panjang dilakukan dengan metode *spread plate* pada media selektif CR-YEMA. Uji Efektivitas Sterilisasi dilakukan dengan tujuan memastikan permukaan sampel bintil akar yang diisolasi sudah terbebas dari kontaminan bakteri lain. Purifikasi Bakteri dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan isolat murni, sehingga dalam satu media *Nutrient Agar* miring diperoleh satu jenis isolat bakteri. Karakterisasi Mikroskopi Sel Bakteri dilakukan dengan pengecatan gram dan endospora. Karakteristik yang diamati yaitu sifat gram, bentuk sel, susunan selnya, serta ada atau tidaknya endospora. Karakterisasi Makroskopi Koloni Bakteri dilakukan dengan menginokulasikan bakteri pada media NA dan NB kemudian diinkubasi pada suhu ruang (27°C) di ruang gelap. Identifikasi Fisiologi (Biokimia) Bakteri dilakukan dengan pengujian biokimia meliputi uji hidrolisa gelatin, uji fermentasi karbohidrat, uji hidrolisis pati, uji katalase, uji penggunaan sitrat sebagai sumber karbon, uji produksi H₂S, uji produksi indol, uji motilitas, dan uji pengaruh suhu.

Data primer penelitian berupa data hasil karakteristik isolat bakteri dari bintil akar aktif dan tidak aktif serta rhizosfer akar tanaman kacang panjang (*Vigna unguiculata* L). Data sekunder diperoleh dari mengkaji teori dan informasi dari berbagai sumber yang relevan seperti skripsi sebelumnya, jurnal, makalah dan website.

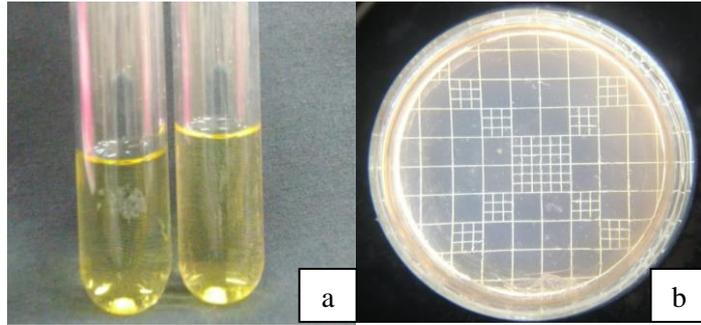
Analisis data bersifat kualitatif dan deskriptif-eksploratif. Analisis data dilakukan dengan mendeskripsikan karakteristik fenotip isolat, morfologi koloni, morfologi sel, dan sifat biokimia. Identifikasi bakteri dilakukan dengan *profile matching* berdasarkan karakteristik dan sifat biokimia dari masing-masing isolat terhadap genus bakteri acuan menggunakan buku *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* dan artikel penelitian serta jurnal ilmiah yang relevan. Data hasil pengujian ditata dalam bentuk tabel pada program MS Excel. Pengkodean pada tabel menggunakan sistem biner, yakni notasi 1 apabila hasil pengujian karakter tertentu positif sedangkan 0 apabila hasil pengujian negatif. Konstruksi dendogram dilakukan menggunakan *Multivariate Statistical Package* (MVSP) 3.1. dengan uji *Cluster Analysis*. Untuk memperoleh indeks similaritas masing-masing isolat bakteri, digunakan koefisien *Simple Matching Coeficient* (SSM). Pengelompokan ini dilakukan dengan algoritma *Unwight Pair Group Method* (UPGMA).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Uji Efektivitas Sterilisasi Permukaan Bintil Akar

Hasil uji efektifitas sterilisasi dikatakan berhasil jika pada media NB atau CR-YEMA tidak ada bakteri yang tumbuh setelah diinkubasi ± 48 jam atau artinya permukaan bintil tersebut sudah steril dari bakteri kontaminan lain. Hasil uji efektifitas sterilisasi permukaan bintil akar dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji efektifitas sterilisasi. a.) Hasil uji pada media NB, b.) Hasil uji pada media CR-YEMA plate

Isolasi dan Purifikasi Bakteri

Isolasi bakteri dilakukan dengan menggunakan media *Yeast Extract Mannitol Agar* (YEMA), yang merupakan media selektif untuk mengisolasi bakteri penambat N (Becking, 1959 dalam Rao, 2007). Sementara itu penambahan *congo red* pada media YEMA (CR – YEMA) digunakan sebagai penanda rhizobia, dimana rhizobia tetap berwarna putih saat tumbuh sedangkan non rhizobia akan menyerap warna merah jambu pada media CR-YEMA (Vincent, 1970).

Dari hasil isolasi kemudian dilakukan purifikasi. Dari hasil isolasi dilakukan purifikasi atau permurnian dan diperoleh 14 isolat murni, 2 isolat dari sampel bintil akar aktif, 3 isolat dari bintil akar tidak aktif dan 9 isolat dari rhizosfer akar (Tabel 1).

Tabel 1. Hasil Purifikasi Koloni Bakteri

Sampel	Jumlah	Kode Isolat
Bintil Akar Aktif	2	A1, A2
Bintil Akar Tidak Aktif	3	N1, N2, N3
Rhizosfer Akar	9	R1, R2, R3, R4, R5, R6, R7, R8, R9

Karakteristik Mikroskopi Isolat Bakteri

Bakteri gram positif pada pengecatan gram akan berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah pada pengecatan gram (Irianto, 2013). Perbedaan warna bakteri gram negatif dan gram positif ini dikarenakan perbedaan struktur dinding sel antara kedua jenis bakteri. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel dengan kandungan peptidoglikan yang tebal (Fitri & Yasmin, 2011).

Sedangkan hasil positif dari pengecatan endospora ditandai dengan endospora akan berwarna hijau akibat mengikat warna malachite green (Fitrah, dkk., 2013 dalam Chasanah, 2018). Karakteristik mikroskopi isolat bakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik Mikroskopi Isolat Bakteri

No.	Kode Isolat	Sifat Gram	Bentuk Sel	Susunan Sel	Endospora
1.	A1	Positif	Coccus	Staphylococcus	-
2.	A2	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
3.	N1	Negatif	Basil	Monobasil	-
4.	N2	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
5.	N3	Positif	Coccus	Streptococcus	-
6.	R1	Negatif	Basil	Monobasil	-
7.	R2	Negatif	Basil	Monobasil	-

8.	R3	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
9.	R4	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
10.	R5	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
11.	R6	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
12.	R7	Negatif	Coccus	Streptococcus	-
13.	R8	Positif	Coccus	Streptococcus	-
14.	R9	Negatif	Coccus	Streptococcus	-

Keterangan : (-) Tidak Terdapat Endospora

Karakterisasi Makroskopis Isolat Bakteri

Ke - 14 isolat bakteri yang diperoleh yang ditanam pada media NA mempunyai karakteristik yang berbeda – beda yaitu memiliki konfigurasi *round* dan *irregular*, margin *smooth* dan *wavy*, elevasi *raised* dan *convex* (Tabel 3).

Tabel 3. Karakteristik Koloni Isolat Bakteri pada Media NA

No.	Kode Isolat	Karakteristik Koloni pada Media NA Plate			
		Konfigurasi	Margin	Elevasi	Warna
1.	A1	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	Kuning
2.	A2	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	Putih
3.	N1	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Convex</i>	Putih
4.	N2	<i>Round</i>	<i>Wavy</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan
5.	N3	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Raised</i>	Putih
6.	R1	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Raised</i>	Putih
7.	R2	<i>Rhizoid</i>	<i>Wavy</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan
8.	R3	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Raised</i>	Putih
9.	R4	<i>Irregular</i>	<i>Wavy</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan
10.	R5	<i>Irregular</i>	<i>Wavy</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan
11.	R6	<i>Round</i>	<i>Wavy</i>	<i>Convex</i>	Putih
12.	R7	<i>Round</i>	<i>Wavy</i>	<i>Raised</i>	Putih Kekuningan
13.	R8	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Raised</i>	Putih
14.	R9	<i>Round</i>	<i>Smooth</i>	<i>Raised</i>	Putih

Pengamatan karakteristik makroskopis koloni bakteri pada media NB dilakukan dengan mengamati tipe pertumbuhannya dan kebutuhan O₂. Karakteristik Makroskopis koloni bakteri pada media NB dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik Pertumbuhan Isolat Bakteri Pada Media NB

No	Kode Isolat	Karakteristik Pertumbuhan	
		Tipe Pertumbuhan	Kebutuhan O ₂
1.	A1	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
2.	A2	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
3.	N1	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
4.	N2	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
5.	N3	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
6.	R1	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
7.	R2	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
8.	R3	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
9.	R4	<i>Pellicle</i>	Aerob

10.	R5	<i>Pellicle</i>	Aerob
11.	R6	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
12.	R7	<i>Pellicle</i>	Aerob
13.	R8	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob
14.	R9	<i>Uniform fine turbidity</i>	Fakultatif Anaerob

Hasil Uji Fisiologis (Biokimia) Bakteri

Karakterisasi fisiologi (biokimia) bertujuan untuk mengetahui aktivitas sel dan interaksi biokimia yang terjadi. Uji ini merupakan upaya yang dilakukan untuk mengidentifikasi dan mendeterminasi suatu biakan murni bakteri hasil isolasi melalui sifat-sifat fisiologinya (Petczar *et al.*, 2010) karena suatu bakteri tidak dapat diidentifikasi hanya berdasarkan sifat-sifat morfologinya saja, karena bakteri yang berbeda dapat tampak serupa, tanpa hasil pengamatan fisiologis (Lehninger, 1992). Hasil uji fisiologis (biokimia) isolate bakteri yang ditemukan dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Fisiologis (Biokimia)

Kode Isolat	Jenis Uji									
	Motilitas	H2S	Indol	Sitrat	Hdr Glatin	Hdr Pati	Katalase	Suhu 16 ^o	Suhu 27 ^o	Suhu 37 ^o
A1	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+
A2	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
N1	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
N2	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
N3	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+
R1	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+
R2	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+
R3	+	-	-	+	+	-	+	+	+	+
R4	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+
R5	-	-	-	+	+	-	+	-	+	+
R6	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+
R7	-	-	-	+	-	-	+	-	+	+
R8	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+
R9	+	-	-	+	-	-	+	+	+	+

Keterangan :

(+) : Hasil Positif

(-) : Hasil Negatif

Pada uji fisiologis (biokimia) isolat bakteri yang ditemukan juga dilakukan pengujian fermentasi karbohidrat. Hasil uji fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Fermentasi Karbohidrat

Kode Isolat	Jenis Uji Fermentasi Karbohidrat			
	Glukosa	Sukrosa	Maltosa	Laktosa
A1	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g
A2	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
N1	-a/-g	-a/-g	-a/-g	-a/-g
N2	+a/-g	+a/-g	+a/-g	+a/-g
N3	+a/-g	+a/-g	+a/-g	+a/-g
R1	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
R2	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
R3	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
R4	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/-g
R5	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
R6	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g
R7	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g

R8	+a/-g	+a/-g	+a/-g	+a/-g
R9	+a/+g	+a/+g	+a/+g	+a/+g

Keterangan :

+a/+g : Positif asam dan menghasilkan gas

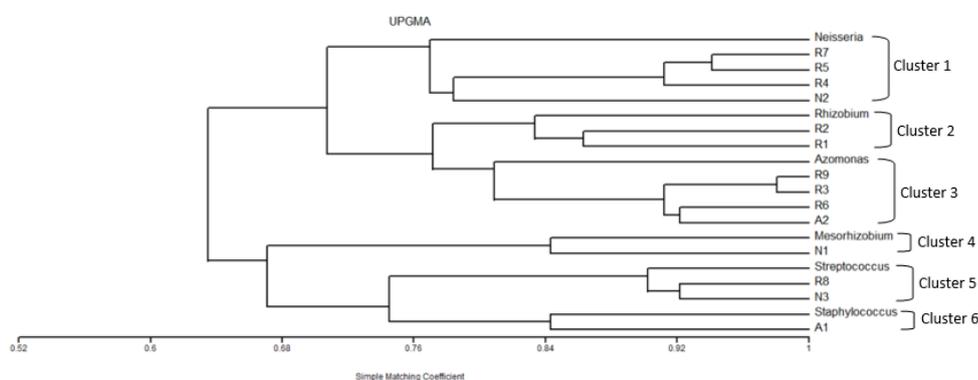
-a/-g : Negatif Asam tidak menghasilkan gas

+a/-g : Positif asam dan tidak menghasilkan gas

Identifikasi Bakteri

Genera acuan yang diperoleh yaitu *Mesorhizobium*, *Neisseria*, *Rhizobium*, *Azomonas*, *Streptococcus*, dan *Staphylococcus*. Data karakteristik fenotipik isolate bakteri yang telah diklasifikasi secara numerik dengan genera terduga yang telah diperoleh kemudian dianalisis menggunakan aplikasi *Multi-Variate Statistical Package (MVSP)* dengan uji *Cluster Analysis*.

Analisis data menghasilkan matriks similaritas yang menunjukkan besarnya karakter yang dimiliki oleh satu isolat bakteri yang diperoleh dibandingkan dengan genera isolat bakteri terduga. Hasil konstruksi dendrogram menunjukkan hubungan kekerabatan antar isolat bakteri yang diperoleh dengan genera terduga. Semakin besar similaritas yang dimiliki suatu isolat maka semakin dekat hubungan kekerabatannya. Berikut adalah dendrogram hasil uji *Cluster Analysis* yang dilakukan pada matriks similaritas berdasarkan *Simple Matching Coefficient* (Gambar 2).



Gambar 2. Hasil Dendrogram Isolat Bakteri

Hasil identifikasi isolat bakteri dari sampel bintil akar aktif dan tidak aktif serta rhizosfer tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Identifikasi Isolat Bakteri dari Sampel Bintil Akar Aktif dan Tidak Aktif serta Rhizosfer Tanaman Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.)

Genera Bakteri	Sampel		
	Bintil Akar Aktif	Bintil Akar Tidak Aktif	Rhizosfer
<i>Neisseria</i>		v	v
<i>Rhizobium</i>			v
<i>Azomonas</i>	v		v
<i>Mesorhizobium</i>		v	
<i>Streptococcus</i>		v	v
<i>Staphylococcus</i>	v		

Pembahasan

Pada penelitian ini sudah menggunakan sumber isolat bintil tidak hanya yang aktif saja namun juga yang tidak aktif serta rhizosfer dari tanaman kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) sehingga ditemukan beberapa genera baru yang ditemukan dari sumber isolat.

Genera yang ditemukan pada bintil akar aktif yaitu *Azomonas* merupakan bakteri penambat nitrogen sehingga tidak menutup kemungkinan bahwa bakteri tersebut dapat bersimbiosis dengan tanaman kacang panjang. *Mesorhizobium* juga merupakan bakteri penambat N namun ditemukan pada bintil akar yang tidak aktif hal tersebut bisa terjadi karena tidak adanya kecocokan antara inang dengan bakteri tersebut, sehingga protein leghemoglobin yang melindungi enzim nitrogenase tidak akan terbentuk. Oleh sebab itu enzim nitrogenase tidak akan bisa melakukan perannya dalam menambat nitrogen. Hal ini juga bisa disebabkan oleh perkembangan bintil yang belum maksimal atau masih muda sehingga bintil belum menjadi aktif, atau bisa juga dikarenakan umur bintil sudah terlalu tua sehingga bintil yang semulanya aktif sudah menjadi tidak aktif. Kemampuan bakteri dalam memfiksasi nitrogen akan bertambah seiring dengan bertambahnya umur tanaman, namun maksimal sampai akhir masa berbunga atau mulai pembentukan biji. Setelah masa pembentukan biji maka kemampuan memfiksasi nitrogen akan menurun bersamaan dengan semakin banyaknya bintil akar yang tua dan mulai luruh (Adisarwanto, 2009).

Genera *Neisseria*, *Streptococcus* dan *Staphylococcus* bukan merupakan bakteri penambat N. Namun genera *Neisseria* ditemukan menjadi bakteri endofit dari akar napas tumbuhan *Avicennia marina* (Yanti *et al.*, 2021). Genera *Streptococcus* juga ditemukan menjadi bakteri endofit yang hidup pada jaringan akar kayu burung (Nuruwe *et al.*, 2020). Genera *Staphylococcus* juga ditemukan sebagai endofit pada tanaman bakau *Avicennia marina* (Ramadhanty *et al.*, 2021) dan juga ditemukan menjadi bakteri endofit pada jaringan akar pohon ketapang hutan dan jaringan daun pohon kayu marsegu (Nuruwe *et al.*, 2020). Bakteri endofit biasanya masuk ke dalam tanaman melalui zona akar, maupun dari udara, termasuk melalui batang, daun, bunga dan kotiledon kemudian menginfeksi dan menjadi bakteri endofit pada tanaman tersebut. (Zinniel *et al.*, 2002). Bakteri endofit juga dapat bermigrasi melalui berkas pengangkut *xylem* dengan bantuan flagela yang dimiliki bakteri dan melalui aliran transpirasi tanaman (Compant *et al.*, 2005; James *et al.*, 2002).

Ditemukan genera bakteri yang berbeda dari sampel bintil akar aktif dan tidak aktif. Beberapa genera bakteri yang terisolasi dari sampel bintil akar aktif yaitu *Azomonas* dan bintil akar tidak aktif yaitu *Neisseria* dan *Streptococcus*, juga ditemukan pada rhizosfer. Namun genera *Staphylococcus* yang terdapat pada bintil akar aktif dan *Mesorhizobium* tidak ditemukan pada rhizosfer. Hal tersebut kemungkinan bisa terjadi karena adanya kemampuan bakteri dalam memproduksi bakteriosin. Bakteriosin merupakan sejenis peptida antimikroba atau protein hasil sintesis ribosom yang diproduksi oleh bakteri. Keberadaan bakteriosin ini dapat membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri lain baik yang sejenis maupun yang tidak sejenis, sehingga pertumbuhan bakteri lain pada media kultur yang sama menjadi tidak beragam (Cotter *et al.*, 2005). Kemampuan bakteriosin dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan genera bakteri lain bertujuan untuk mempertahankan populasi dan mengurangi jumlah pesaing untuk mendapatkan lebih banyak nutrisi dan ruang hidup di lingkungan (Yang *et al.*, 2014).

Terdapat juga genera bakteri yang hanya ditemukan pada rhizosfer akar yaitu *Rhizobium*. Hal tersebut bisa terjadi karena genera *Rhizobium* belum menginfeksi atau memang tidak adanya kecocokan antara inang dengan bakteri tersebut. Karena *Rhizobium* merupakan bakteri penambat nitrogen yang biasanya disebut sebagai bakteri bintil akar yang dapat menginfeksi akar tanaman legum dan membentuk bintil yang merupakan tempat terjadinya fiksasi nitrogen (Reeve *et al.* 2015). Dan genera ini memang banyak ditemukan hidup di sekitar perakaran tanah subur atau marginal (Dean *et al.*, 2014).

SIMPULAN

Dari hasil penelitian diperoleh total 14 isolat murni yang memiliki karakteristik yang beragam. Dari hasil identifikasi terdapat 6 genera bakteri yang diperoleh yaitu genera *Neisseria* pada sampel bintil akar tidak aktif dan rhizosfer, *Rhizobium* pada sampel rhizosfer, *Azomonas* pada sampel bintil akar aktif dan rhizosfer, *Mesorhizobium* pada sampel bintil akar tidak aktif, *Streptococcus* pada sampel bintil akar tidak aktif dan rhizosfer, serta *Staphylococcus* pada sampel bintil akar aktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dr. Dra. Bernadetta Octavia, M.Si. selaku dosen pembimbing Tugas Akhir Skripsi dan sebagai payung penelitian serta pihak yang turut membantu keberhasilan penelitian dan penyusunan artikel ilmiah ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisarwanto, T. 2009. *Kedelai (Budidaya dengan Pemupukan yang Efektif dan Pengoptimalan Bintil Akar)*, Cetakan ke-IV. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Agisti A., Alami N.H., Hidayati T.N.(2014). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik pada Lahan Restorasi dengan Metode Legume Cover Crop (LCC) di Daerah Pasirian Lumajang Jawa Timur. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*.Vol.3 (2).
- Compant, S., Reiter, B., Sessitsch, A., Nowak, J., Clément, C., Barka, E.A., (2005). Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth-promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain *PsJN*. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 1685–1693.
- Cotter, P. D., Ross, R. P., and Hill, C. (2013). Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? *Nat. Rev. Microbiol.* 11, 95–105. doi: 10.1038/nrmicro2937.
- Dean, JM., MC. Mescher & CM. De Moraes. (2014). Plant dependence on rhizobia for nitrogen influences induced plant defenses and herbivore performance. *International Journal of Molecular Sciences*, 15: 1466 – 1480.
- Desire TV, Vivien NG and Claude S. (2017). Evaluation of different sweet potato varieties for growth, quality and yield traits under chemical fertilizer and organic amendments in sandy ferralitic soils. *Afr. J. Agric. Res.* 12(48): 3379-3388.
- Fitrah, I. D., Darmawi, dan Rasmaidar. (2013). Isolasi *Pasteurella multocida* pada kuda dan sensitivitasnya terhadap antibiotik. *Jurnal Medika Veterinaria*, 7: 121–125.
- Fitri, L dan Y. Yasmin. (2011). Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kitinolitik. *Jurnal Ilmiah Pendidikan Biologi, Biologi Edukasi*, 3(2): 20- 25.
- Heliati, I. 2003. Teknik Isolasi *Rhizobium* Alam dari Tanah. Prosiding. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti. Bogor. Hal. 62-65.
- Hutasoit R, Taringan A, dan Sirait J. (2017). Tanaman pakan leguminosa dalam sistem integrasi dengan perkebunan jeruk. *Pastura*. 7 (1): 32-36.
- Ikhsani D. Hindersah R, dan Herdiyantoro D. (2018). Pertumbuhan tanaman kacang tanah (*Arachis hypogea* L. Merril) setelah aplikasi *Azotobacter chroococcum* dan pupuk NPK. *Agrologia*. 7 (1):1-8.
- James, E.K., Gyaneshwar, P., Mathan, N., Barraquio, W.L., Reddy, P.M., Iannetta, P.P., Olivares, F.L., Ladha, J.K., (2002). Infection and colonization of rice seedlings by the plant growth-promoting bacterium *Herbaspirillum seropedicae* Z67. *Mol. Plant Microbe Interact.* 15, 894–906.
- Lehninger (1992). *Dasar-dasar Biokimia* Jilid 1. Jakarta: Erlangga.
- Mandiri, T.K.T. (2011). *Pedoman Bertanam Kacang Panjang*. Bandung : Nuansa Aulia.
- Mpapa, BL. (2016). Analisis kesuburan tanah tempat tumbuh pohon jati (*Tectona Grandis* L.) pada ketinggian yang berbeda. *Agrista*. 20 (3): 1-5.
- Nuruwe, C., Matinahoru, J., & Hadijah, M. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit

- Beberapa Jenis Pohon Berhabitat Basah. *JURNAL BUDIDAYA PERTANIAN*, 16(1), 65-70.
- Permatasari, Aisyah Dewi dan Tutik Nurhidayati. (2014). Pengaruh Inokulan Bakteri Penambat Nitrogen, Bakteri Pelarut Fosfat dan Mikoriza Asal Desa Condro, Lumajang, Jawa Timur terhadap Pertumbuhan Tanaman Cabai Rawit. *JURNAL SAINS DAN SENI POMITS* Vol. 3, No.2, (2014) 2337-3520 (2301-928X Print).
- Pervin S., Jannat B., Sanjee S. and Farzana T. (2017). Characterization Of Rhizobia From Root Nodule And Rhizosphere Of *Lablab Purpureus* And *Vigna Sinensis* In Bangladesh. *Turkish Journal Of Agriculture - Food Science And Technology*, 5(1): 14-17.
- Petzar, Michael J. dan E.C.S Chan (2010). *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI press.
- Rachmawati, D. dan Retnaningrum, E. (2013). Pengaruh Tinggi Dan Lama Penggenangan Terhadap Pertumbuhan Padi Kultivar Sintanur Dan Dinamika Populasi Rhizobakteri Pemfiksasi Nitrogen Non Simbiosis.
- Ramadhanty MA, Lunggani AT & Nurhayati, 2021. Isolasi Bakteri Endofit Asal Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* dan Kemampuannya Sebagai Antimikroba Patogen *Staphylococcus aureus* dan *Salmonella typhi* Secara in Vitro. *Niche Journal of Tropical Biology*. 4(1): 16-22.
- Rao, S.N.S. 2007. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press).
- Reeve, W., J. Ardley, R. Tian, L. Eshragi, JW. Yoon, P. Ngamwisetkun, R. Seshadri, NN. Ivanova, & NC. Kyrpides. (2015). A Genomic Encyclopedia of the Root Nodule Bacteria: assessing genetic diversity through a systematic biogeographic survey. *Standards Genomic Sciences*. 9: 10:14.
- Saraswati R, Sumarsono. (2007). Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah sebagai Komponen Teknologi Pertanian. *Iptek Tanaman Pangan*. 3(1): 41-58.
- Tando E. (2018). Upaya efisiensi dan peningkatan ketersediaan nitrogen dalam tanah serta serapan nitrogen pada tanaman padi Sawah (*Oryza sativa* L.). *Buana Sains*. 18(2): 171-180.
- Vincent, J.M. 1970. *A Manual for Practical Study of Root Nodule Bacteria*. Blackwell Scientific Publishers, Oxford, 164.
- Yang, S. C., Lin, C. H., Sung, C. T., & Fang, J. Y. (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: Application in foods and pharmaceuticals. *Frontiers in Microbiology*, 5(241), 1–10.
- Yanti, D., Rahmawati, & Kurniatuhadi, R. (2021). Karakteristik Morfologis Dan Fisiologis Bakteri Endofit Dari Akar Napas Tumbuhan *Avicennia marina*. *Jurnal Biologica Samudra*, 3(2), 166–183.
- Zinniel DK, P Lambrecht, NB Harris, Z Feng, D Kuczmarski, P Higley, CA Ishimaru, Arunakumari, RG Barletta and AK Vidaver. 2002. Isolation and characterization of endophytic colonizing bacteria from agronomic crops and prairie plants. *Appl. Environ. Microbiol.* 8:2198-2208.