

**IDENTIFIKASI BEBERAPA BAKTERI FILOSFER PADA PADI PULU
MANDOTI DARI KABUPATEN ENREKANG SULAWESI SELATAN**

FATMAWATI SAMAD

H41108251



JURUSAN BIOLOGI

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2013

**IDENTIFIKASI BEBERAPA BAKTERI FILOSER PADA PADI
PULU MANDOTI DARI KABUPATEN ENREKANG SULAWESI
SELATAN**

SKRIPSI

*untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi syarat-syarat
untuk mencapai gelar sarjana sains biologi*

FATMAWATI SAMAD

H411 08 251

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

LEMBAR PENGESAHAN

IDENTIFIKASI BEBERAPA BAKTERI FILOSFER PADA PADI PULU MANDOTI DARI KABUPATEN ENREKANG SULAWESI SELATAN

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Drs. As'adi Abdullah, M. Si.
NIP.19620303 198903 1007

Pembimbing Pertama

Dr. Nur Haedar Nawir, M. Si.
NIP. 19680129 199702 1 001

Pembimbing Kedua

Dr. Hj. A. Masniawati, M. Si.
NIP. 19700213 199603 2 001

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah rabbi'lamin, segala puji bagi Allah Tuhan semesta alam yang telah memberikan kemudahan sehingga penelitian ini selesai. Shalawat dan salam tak lupa terkirim untuk Muhammad Rasulullah SAW., sebagai teladan terbaik sepanjang masa.

Penulisan skripsi yang berjudul "Identifikasi Beberapa Bakteri Filosfer Pulu' Mandoti dari Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan" adalah salah satu syarat ujian akhir guna memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih kepada Ayahanda Abdul Samad dan Ibunda Halima atas segala kasih sayang, dukungan, dan doa dari beliau yang tak henti-hentinya mereka berikan. Kepada kakak saya Muhajir yang telah membiayai kuliah saya sampai selesai, saya ucapkan banyak terima kasih, serta om Syaharuddin, kakakku Achmad Syarif, dan adikku Ardiansyah Samad, dan seluruh keluarga yang juga selalu memberikan semangat kepada saya.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan pula kepada Bapak Drs. As'adi Abdullah, M. Si. selaku pembimbing utama, Ibu Dr. Nur Haedar Nawir, M. Si. selaku pembimbing pertama dan Ibu Dr. Hj. A. Masniawati M. Si. selaku pembimbing kedua yang telah memberi pengalaman berharga, dorongan, semangat, waktu, tenaga, dan pikiran, selama penyusunan hingga terselesaikan dengan baik.

Penulis juga menyampaikan rasa terima kasih sebesar-besarnya dan penghargaan setinggi-tingginya kepada:

- Ketua dan Sekertaris Jurusan serta Staf Dosen Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin atas ilmu dan petunjuknya selama ini.
- Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta staf yang telah memberikan bantuan dan kemudahan selama mengikuti perkuliahan.
- Ibu Dra. Eva Johannes, M. Si. selaku penasehat akademik yang telah banyak membantu penulis selama masa perkuliahan.
- Ibu Dr. Elis Tambaru, M. Si., Ibu Dr. Irma Andriani, M. Si., Ibu Dr. Hj. Zohra Hasyim, M. Si., dan Ibu Dr. Magdalena Litaay, M. Sc. selaku tim penguji yang telah membantu memperbaiki kesalahan-kesalahan dalam penulisan skripsi.
- Rekan-rekan MASTOIDEUS yang telah mengisi hari-hari selama masa-masa perkuliahan, kalian tak akan saya lupakan.
- Partner kerja selama penelitian : Iin Kusmawati, Fatmawaty B., Marini Fitrianty M., Risnawaty R., dan Widiya Astuti.
- Rekan-rekan di Fakultas MIPA Unhas angkatan 2008 yang bersama-sama melalui berbagai proses pengkaderan selingkup universitas.
- Rekan-rekan di Himpunan Mahasiswa Biologi, FMIPA Unhas.
- Penghuni pondok Nirwana 2 yang memberikan motivasi dan dukungannya.

- Rekan-rekan komunitas SIGI Makassar yang juga memberikan motivasi dan dukungannya.
- Kakak Ahmad dan Kakak Anto yang telah membantu penulis selama mengerjakan penelitian di PKP (Pusat Kegiatan Penelitian).
- Seluruh pihak yang tidak sempat saya sebut satu-persatu, terima kasih untuk doa dan semangatnya.

Penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi para pembaca dan pengembangan ilmu pengetahuan kelak.

Makassar, Juni 2013

Penulis

ABSTRAK

Penelitian mengenai identifikasi beberapa bakteri filofit Pulu Mandoti dari Kabupaten Enrekang Sulawesi Selatan. Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan mengetahui jenis-jenis bakteri filofit yang dijumpai pada daun tanaman padi lokal seperti Pulu Mandoti dari Kabupaten Enrekang. Pengamatan dilakukan terhadap morfologi koloni dan morfologi sel, termasuk sifat gram isolat bakteri dan pengamatan endospora. Isolat ditumbuhkan pada 4 medium spesifik yaitu medium King's B, medium SPA (Sucrose Peptone Agar), medium TSA (Tryptic Soy Agar), dan medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar). Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 3 jenis bakteri yang bersifat gram negatif dan 1 bersifat gram positif. Terdapat 1 jenis bakteri yang membentuk endospora. Bakteri yang teridentifikasi yaitu berasal dari genus *Xanthomonas*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, dan *Bacillus*.

Kata Kunci: Bakteri Filofit, Pulu Mandoti, Padi Lokal, Enrekang

ABSTRACT

The research on the identification of several bacterial phyllosphere Pulu Mandoti of Enrekang regency, South Sulawesi had been done. The research aim to isolate and to determine the types of bacteria that were found on the phyllosphere area at local rice plants as Pulu Mandoti of Enrekang. Data were collected for colony morphology and cell morphology, including of the bacterial isolates gram and observations endospores. There are 4 isolates were grown on the specific medium that are King's B medium, SPA (Sucrose Peptone Agar) medium, TSA (Tryptic Soy Agar) medium, and NFMA (Nitrogen Free Mannitol Agar) medium. The results showed that there are 3 types of bacteria that are negative gram and 1 character positive gram. There is one type of bacteria that form endospores. Bacteria identified from the genus *Xanthomonas*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, and *Bacillus*.

Key words: Phyllosphere Bacteria, Pulu Mandoti, local rice, Enrekang

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian.....	3
I.3 Manfaat Penelitian.....	3
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
II.1 Tinjauan Umum Padi	5
II.2 Ekologi Filosfer	6
II.3 Bakteri Filosfer	9
II.4 Teknik Isolasi	13
BAB III. METODE PENELITIAN	17
III.1 Alat	17

III.2 Bahan	17
III.3 Prosedur Kerja	17
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	24
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	30
V.1 Kesimpulan	30
V.2 Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Filosfer dari Daun Padi Pulu' Mandoti dari Kabupaten Enrekang yang Ditumbuhkan Pada Medium Spesifik.....	24
2. Pengamatan Morfologi Sel, Pewarnaan, dan Uji Endospora.....	27

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Padi (<i>Oryza sativa</i> L.)	6
2. Hasil Pengamatan di Bawah Mikroskop	28

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Isolasi Bakteri Secara Umum.....	37
2. Gambar Isolat Bakteri.....	38

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Komunitas mikroba pada daun beragam dan mencakup berbagai genera bakteri, jamur, ragi, alga, kadang protozoa dan nematode. Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling banyak menghuni filosfer. Populasi bakteri filosfer cukup bervariasi disebabkan sebagian besar oleh fluktuasi keadaan fisik tanaman, fase, dan umur tanaman. Populasi mikroorganisme filosfer terutama dipengaruhi oleh lingkungan fisik yang fluktuatif dibandingkan dengan habitat di bawah permukaan tanah. Sebagai contoh, bakteri berpigmen jarang ditemukan di rizosfer, melainkan mendominasi permukaan daun, hal ini dikarenakan sinar matahari memengaruhi ekologi dari filosfer tersebut (Fradzan, 2009).

Keragaman bakteri bisa dilihat dari berbagai sudut pandang seperti morfologi, fisiologi, dan genetik dimana tiap-tiap habitat yang berbeda memberikan keragaman yang berbeda pula. Habitat yang sering dihuni oleh bakteri adalah daun, dimana tiap tanaman mempunyai daun yang berbeda, baik dari segi bentuk, ukuran, maupun eksudat yang dikeluarkannya. Perbedaan tersebut menyebabkan bakteri yang menghuninya juga berbeda, walaupun pada tanaman tertentu ditemukan populasi bakteri yang sama (Abhy, 2010).

Bakteri filosfer pada dasarnya berasal dari tanah, air, udara, tanaman lain, atau dibawa oleh binatang khususnya insekta. Bakteri filosfer ditemukan pada stomata, di sepanjang tulang daun dan dinding sel epidermis, hidup pada daun

karena adanya senyawa organik seperti fruktosa, sukrosa, asam organik, asam amino, dan vitamin yang dijadikan sebagai sumber karbon, energi dan senyawa pemicu tumbuh (Beattie dan Lindow, 1999).

Penelitian tentang mikroba pada filosfer yang dilakukan sampai saat ini masih terbatas pada teknik pengkulturan. Meskipun demikian, sebanyak 78 species yang berada dalam 37 genus telah dilaporkan sebagai bakteri filosfer (Beattie dan Lindow, 1999).

Filosfer memiliki keragaman bakteri sebagai populasi penghuni terbanyak. Populasi bakteri sangat berbeda dalam satu atau antar spesies tanaman. Terdapatnya variasi dalam populasi dan keberadaan bakteri tersebut disebabkan terutama oleh fluktuasi lingkungan fisik dan kondisi nutrisi di permukaan daun tersebut. Bakteri yang ditemukan pada filosfer di antaranya *Pseudomonas sp.*, *Xanthomonas sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Azotobacter sp.* (Lindow dan Brandl, 2006; Beatty dan Susan 2002, Zhu *et al.* 2000; Munir, 2006).

Kabupaten Enrekang adalah salah satu Kabupaten yang terletak di sebelah timur dari Provinsi Sulawesi Selatan. Kondisi sektor pertanian yang menonjol dalam struktur ekonomi Kabupaten Enrekang sangat relevan apabila sektor pertanian dikembangkan sebagai sektor unggulan yang dapat memberikan kontribusi positif bagi perkembangan ekonomi daerah. Memperhatikan potensi yang ada seperti luas lahan pertanian, mata pencaharian sebagian besar penduduk adalah petani, serta memberikan kontribusi terbesar dalam perekonomian daerah (Anonim, 2009).

Pulu' Mandoti salah satu beras lokal jenis ketan wangi yang langka. Hanya dapat tumbuh di wilayah pegunungan berketinggian 700 dpl, Desa Salukanan, Kecamatan Baraka, sekitar 60 km dari Kota Enrekang, ibukota Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan. Diduga tanah-tanah di Desa Salukanan memiliki [unsur hara](#) yang spesifik memberikan nilai tambah dalam bentuk rasa maupun aroma terhadap berbagai jenis tanaman padi di daerah ini (Zhalabe, 2009).

Bakteri filiosfer ini dapat berperan sebagai pemacu pertumbuhan yang didukung oleh serangkaian proses mikroba seperti pelarutan nutrien, produksi hormon tumbuh, dan mengantisipasi serangan OPT (organisme pengganggu tanaman) (Bottini *et al.* 2004; Compant *et al.* 2005).

Banyaknya peranan besar bakteri filiosfer dalam pertumbuhan tanaman, maka dilakukan penelitian untuk mengetahui jenis bakteri filiosfer pada padi Pulu Mandoti sebagai salah satu plasma nutfah di kabupaten Enrekang.

1.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini yaitu untuk mengisolasi dan mengetahui jenis-jenis bakteri filiosfer yang dijumpai pada daun tanaman padi lokal seperti Pulu' Mandoti dari Kabupaten Enrekang.

1.3 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini yaitu untuk memberikan informasi kepada masyarakat tentang species bakteri filiosfer pada tanaman padi Pulu' Mandoti untuk dikaji lebih lanjut.

1.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Nopember 2012 sampai bulan Pebruari 2013 di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Pusat Kegiatan Penelitian (PKP) dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Universitas Hasanuddin, Makassar. Pengambilan sampel tanaman dilakukan di Desa Salukanan, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II. 1 Tinjauan Umum Tanaman Padi

Padi (bahasa latin: *Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman budidaya terpenting dalam peradaban. Padi mengacu pada jenis tanaman budidaya juga digunakan untuk mengacu pada beberapa jenis dari marga (genus) yang sama, yang biasa disebut sebagai padi liar. Padi diduga berasal dari India atau Indocina dan masuk ke Indonesia dibawa oleh nenek moyang yang migrasi dari daratan Asia sekitar 1500 SM (Wikipedia, 2011).

Padi termasuk dalam suku padi-padian atau Poaceae (sinonim: Graminae atau Glumiflorae). Terna semusim, berakar serabut; batang sangat pendek, struktur serupa batang terbentuk dari rangkaian pelepah daun yang saling menopang; daun sempurna dengan pelepah tegak, daun berbentuk lanset, warna hijau muda hingga hijau tua, berurat daun sejajar, tertutupi oleh rambut yang pendek dan jarang; bunga tersusun majemuk, tipe malai bercabang, satuan bunga disebut floret, yang terletak pada satu spikelet yang duduk pada panikula; buah tipe bulir atau kariopsis yang tidak dapat dibedakan mana buah dan bijinya, bentuk hampir bulat hingga lonjong, ukuran 3 mm hingga 15 mm, tertutup oleh palea dan lemma yang dalam bahasa sehari-hari disebut sekam, struktur dominan adalah endospermium yang dimakan orang (Wikipedia, 2011).



Gambar 1. Tanaman Padi (sumber: <http://www.rumahusaha.com>, 2010)

Klasifikasi tanaman padi (Tjitrosoepomo, 2007) adalah:

- Regnum : Plantae
Divisio : Spermatophyta
Subdivisio : Angiospermae
Classis : Monocotyledoneae
Ordo : Poales
Familia : Poaceae
Genus : *Oryza*
Species : *Oryza sativa* L.

II. 2 Ekologi Filosfer

Kata ekologi berasal dari *Oikos* yang berarti rumah atau tempat tinggal dan *Logos* yang berarti telaah atau studi. Jadi, ekologi adalah ilmu tentang rumah atau tempat tinggal organisme atau rumah tangga makhluk hidup. Ekologi juga dapat diartikan sebagai ilmu yang mempelajari hubungan timbal balik antara organisme dengan sesamanya dan dengan benda-benda mati di sekitarnya (lingkungannya) (Soeriaatmadja, 1981).

Daun merupakan organ yang paling mendominasi dari seluruh bagian tanaman. Hal ini sangat menguntungkan tanaman sebab dapat digunakan sebagai relung atau habitat bagi mikroorganisme yang mampu hidup di daerah filosfer. Lingkungan tropis sangat baik untuk pertumbuhan filosfer organisme sebab luas permukaan daun lebih besar, produksi primer tiga kali lipat, dan fiksasi nitrogen bisa 10 kali lebih banyak dibandingkan dengan daun tanaman di iklim sedang (Gardner, 1991).

Filosfer merupakan daerah pada daun yang dihuni oleh mikroorganisme. Pada daerah ini mikroorganisme-mikroorganisme mungkin mati, tetap hidup, atau bahkan berkembang biak di atas permukaan daun, tergantung dari sejauh mana pengaruh dari bahan-bahan di dalam daun berdifusi atau merembes keluar. Hasil difusi keluar atau pembocoran keluar dari daun telah dianalisis kandungan kimiawinya yang berupa faktor nutritif seperti asam amino, glukosa dan sukrosa (Rao, 1986).

Bakteri yang dapat hidup dan melakukan aktivitasnya pada permukaan daun disebut bakteri epifit (Beattie dan Lindow, 1999). Menurut Hirano dan Upper (2000), bakteri epifit tidak hanya menempati permukaan daun saja (epidermis), tetapi juga menempati ruang intraselular pada mesofil (apoplas), sedangkan bakteri yang hidup pada jaringan vaskular disebut bakteri endofit. Filosfer menyediakan lingkungan yang ekstrim bagi kehidupan bakteri epifit. Perubahan kondisi lingkungan sering terjadi pada permukaan daun sejalan dengan perubahan siang dan malam. Suhu di permukaan berkisar 40-55 °C pada penyinaran yang intensif, sedangkan di malam hari suhu mencapai 5-10 °C. Radiasi ultra violet yang cukup

tinggi dan lingkungan yang miskin nutrisi (oligotropik) menyumbangkan kondisi yang cekaman bagi bakteri yang hidup pada habitat tersebut. Keunikan yang ada pada permukaan daun adalah bahwa kondisi tersebut terjadi sepanjang dan setiap hari. Mungkin ini tidak seekstrim kondisi yang terjadi pada sumber-sumber air panas atau lingkungan ekstrim lainnya. Pada filosfer terjadi fluktuasi suhu dan penyinaran yang begitu cepat, sering, dan berulang-ulang sehingga dapat menyebabkan cekaman bagi bakteri-bakteri tertentu. Pada kelembapan tinggi seperti di daerah tropis dan sedang, berbagai mikroflora daun banyak ditemukan di sana (Madigan *et al.* 2000).

Menurut Beattie dan Lindow (1999), bakteri pada permukaan daun tidak berada pada tempat yang seragam dan merata, melainkan berkoloni pada situs-situs tertentu. Studi yang dilakukan menggunakan Scanning Electron Microscope (SEM) menunjukkan bahwa bakteri berkoloni di trikoma, stomata, lekukan-lekukan tulang di daun, kutikula, serta hidatoda dan pada lubang stomata (stomata pits) dari tanaman oleander dan di rambut-rambut halus pada daun zaitun. Secara umum populasi bakteri ditemukan lebih banyak di bawah daun (abaxial) dari pada di bagian atas (adaxial). Hal ini karena bagian *abaxial* lebih banyak mengandung stomata dan trikoma, di samping itu lapisan kutikula bagian abaxial lebih tipis dibandingkan dengan bagian adaxial.

Penelitian yang dilakukan Beattie (2002), menunjukkan bahwa ketebalan kutikula mempengaruhi populasi bakteri pada habitat tersebut. Kontak pertama antara bakteri imigran dengan permukaan daun terjadi di lapisan kutikula. Kutikula berupa lapisan lilin, memiliki struktur kristal dalam bentuk tiga dimensi. Struktur

kristal tersebut dapat berbeda pada spesies tanaman dan berubah sesuai dengan umur daun (diduga sebagian disebabkan oleh modifikasi yang dilakukan bakteri). Kutikula membatasi difusi pasif nutrisi dan uap air ke permukaan daun serta menyebabkan hidrofobisitas pada daun. Percobaan yang dilakukan pada jagung mutan yang memiliki lapisan lilin yang berbeda-beda densitas dan komposisi struktur kristalnya, menunjukkan bahwa mutan dengan lapisan lilin yang struktur kristalnya jarang, dihuni oleh bakteri epifit dengan populasi rendah. Hasil penelitian ini masih merupakan skala kecil dari interaksi bakteri dan tanaman yang belum dapat dijelaskan.

II. 3 Bakteri Filosfer

Menurut Lindow dan Brandl (2006) bakteri filosfer merupakan bakteri yang menghuni sekitar permukaan daun. Bakteri sejauh ini diketahui sebagai penghuni terbanyak di filosfer. Bakteri yang mendiami permukaan daun jumlahnya sangat melimpah diperkirakan mencapai $6,4 \times 10^8$ koloni. Bahkan daerah tropis dan sedang diperkirakan jumlahnya lebih besar. Jelas bahwa dengan jumlah tersebut, bakteri filosfer cukup besar untuk berkontribusi dalam berbagai proses penting kehidupan, terutama pada tumbuhan tempat bakteri filosfer hidup.

Bakteri filosfer dikelompokkan sebagai bakteri endofit, epifit (atau filosfer), dan fitopatogen (Azevado *et al.* 2000). Mikroba endofit adalah mikroba yang berkoloni pada jaringan tanaman sehat (Bills, 1996), terutama hidup pada jaringan vaskular tanaman (Klopper *et al.* 1999). Menurut Leveau (2001), filosfer adalah habitat alami bagi mikroba epifit sehingga mikroba tersebut disebut mikroba filosfer.

Bakteri filosfer merupakan bakteri yang berada di sekitar permukaan daun. Awalnya permukaan daun diperkirakan sebagai suatu lingkungan yang tidak bersahabat untuk koloni bakteri karena pada permukaan daun terjadi perubahan kelembaban (RH) dan suhu yang cepat, serta terkena langsung sinar matahari, air, hujan, dan embun. Permukaan daun juga menyediakan nutrisi yang terbatas untuk koloni bakteri bahkan juga dapat terekspos kondisi ekstrim seperti kekeringan, dan lain-lain. Beberapa faktor dapat mempengaruhi mikrohabitat untuk adaptasi bakteri di permukaan daun. Pertama, daun tersusun berlapis oleh suatu lapisan sangat tipis dimana air dapat meresap melalui stomata sehingga dapat mengurangi bakteri dari tekanan air. Kedua, populasi bakteri terutama populasi patogen dapat masuk ke beberapa sel dalam daun. Beberapa bakteri di permukaan daun tersebut masuk ke bagian dalam daun untuk menghindari tekanan di bagian luar daun dengan menempati substomata atau tempat bagian dalam lain. Beberapa fitopatogen mempunyai cara dalam menghindari tekanan, begitupun hampir semua bakteri di permukaan daun atau epifit dengan berbagai caranya akan lebih beradaptasi (Lindow dan Brandl, 2006).

Bakteri filosfer tersebut memiliki kemampuan beradaptasi lebih baik bila terekspos pada kondisi lingkungan yang ekstrim. Beberapa bakteri yang mendiami permukaan daun terbukti membentuk populasi besar tanpa menyebabkan efek samping bagi tanaman (Beattie dan Lindow, 1999). Bakteri-bakteri ini terbukti lebih tahan atau toleran terhadap tekanan dari luar di atas permukaan tanaman, serta terbukti tidak bersifat patogen (Wilson *et al.* 1999).

Warner (1992) melaporkan bahwa spesies bakteri yang paling sering dijumpai pada filosfer adalah *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Archromobacterium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, dan *Azotobacter*. Berbagai spesies bakteri filosfer ini menghasilkan hormon yang dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman. Hormon yang dihasilkan oleh tanaman berinteraksi dengan hormon Indoleacetic Acid yang dihasilkan oleh bakteri filosfer. Bakteri tumbuh dengan baik, sedangkan IAA (Indoleacetic Acid) yang dihasilkan bakteri memperbaiki pertumbuhan tanaman.

Sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman, *Pseudomonas* banyak dilaporkan menghasilkan fitohormon dalam jumlah besar khususnya IAA (Indoleacetic Acid) untuk merangsang pertumbuhan yaitu asam giberelin, sitokinin dan etilen serta melarutkan fosfat, kalium atau nutrisi lain sehingga tersedia bagi tanaman (Dey *et al.* 2004).

Pada beberapa galur *Pseudomonas sp.* dapat membantu tanaman menghadapi cekaman lingkungan seperti kekurangan air dan nutrisi serta pencemaran senyawa toksin (Shen, 1997). Selain sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, *Pseudomonas sp.* juga mempunyai kemampuan sebagai agen biokontrol terhadap serangan fungi patogen tanaman. Mekanisme dalam menekan pertumbuhan fungi patogen tanaman diantaranya karena *Pseudomonas sp.* mampu menghasilkan senyawa siderofor, β -1,3 glukukanase, kitinase, antibiosis dan sianida (Chermin dan Chet, 2002; Selitrennikoff 2001). *Pseudomonas sp.* juga menghasilkan senyawa antibiotik antara lain bakteriosin, pioluteorin, pirolnitril,

fenazin, 2,4-diasetil floroglusinol dan fusarisidin (Beatty dan Susan, 2002; Dwivedi dan Johri, 2003).

Bacillus sp. mempunyai kemampuan sebagai biokontrol penyakit tanaman dengan memproduksi antibiotik yang disekresikan saat kultur memasuki fase stasioner dan memproduksi metabolit sekunder seperti enzim kitinase, mycobacilin, bacitrasin, dan zwittermicin (Madigan *et al.* 2000). *Xanthomonas sp.* diketahui mampu menghambat pertumbuhan patogen pada tanaman (Zhu *et al.* 2000)

Azotobacter diketahui mampu mensintesis substansi yang secara biologis aktif dapat meningkatkan perkecambahan biji, tegakan dan pertumbuhan tanaman seperti vitamin B, asam indol asetat, giberelin, dan sitokinin (Wedhastri, 2002; Ahmad *et al.* 2005; Husen, 2003; Adiwiganda *et al.* 2006). *Azotobacter* juga memiliki kemampuan dalam metabolisme senyawa fenol, halogen, hidrokarbon, dan juga berbagai jenis pestisida (Munir, 2006). Selain itu, *Azotobacter sp.* juga dikenal sebagai pengendali penyakit tanaman karena kemampuannya menghasilkan senyawa anti antibiotik, antifungi yang juga membantu perkecambahan benih (Shende *et al.* 1977).

Keragaman bakteri ini sangat dipengaruhi oleh kelembapan dan kecepatan angin, kelembapan dapat diperoleh dari hujan dan embun. Kelembapan ini dapat hilang disebabkan oleh temperatur, angin, dan aktivitas sel tanaman. Kelembapan dan kecepatan angin dapat mempengaruhi mobilitas bakteri, yang akhirnya dapat menentukan keberadaan bakteri. Hal lain yang dapat menentukan keberadaan bakteri filosof, yaitu nutrisi. Kelimpahan nutrisi pada daun dapat mengindikasikan

keberadaan mikroorganisme, terutama sumber karbon dan nitrogen (Lindow, 2006; Wilson, 1994).

II. 4 Teknik Isolasi

Sturz dan Nowak (2000) menyatakan bahwa dalam mengeksplorasi bakteri endofitik perlu suatu strategi yang dimulai dari isolasi dan purifikasi mikroba endofitik yang bersifat menguntungkan dari mikroba penyebab penyakit, menguji kemampuannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, memperbanyak, dan mengaplikasikan pada tanaman sedini mungkin agar mendominasi populasi mikroba pada jaringan tanaman yang diinokulasi.

- Teknik Preparasi Suspensi

Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam akuades steril. Tujuan dari teknik ini pada prinsipnya adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Macam-macam preparasi bergantung kepada bentuk sampel (Pradhika, 2008) :

- a. Ulas (*Swab*) dilakukan menggunakan *cotton bud* steril pada sampel yang memiliki permukaan luas dan pada umumnya sulit dipindahkan atau sesuatu pada benda tersebut. Contohnya adalah meja, batu, batang kayu dan lain-lain. Caranya dengan mengusapkan *cotton bud* memutar sehingga seluruh permukaan kapas dari *cotton bud* kontak dengan permukaan sampel. *Swab* akan lebih baik jika *cotton bud* dicelupkan terlebih dahulu ke dalam larutan atraktan semisal *pepton water*.
- b. bilas (*Rinse*) ditujukan untuk melarutkan sel-sel mikroba yang menempel pada permukaan substrat yang luas tapi relatif berukuran kecil, misalnya daun bunga

dan lain-lain. Rinse merupakan prosedur kerja dengan mencelupkan sampel ke dalam akuades dengan perbandingan 1 : 9 (w/v). Contohnya sampel daun diambil dan ditimbang 5 g kemudian dibilas dengan akuades 45 ml yang terdapat dalam *beaker glass*.

- c. Pengancuran (*maseration*) sampel yang berbentuk padat dapat ditumbuk dengan mortar dan *pestle* sehingga mikroba yang ada di permukaan atau di dalam dapat terlepas kemudian dilarutkan ke dalam air.

- **Teknik Penanaman**

Beberapa teknik penanaman mikroba yaitu (Pradhika, 2008):

a. Teknik penanaman dari suspensi

Teknik penanaman ini merupakan lanjutan dari pengenceran bertingkat. Pengambilan suspensi dapat diambil dari pengenceran mana saja tapi biasanya untuk tujuan isolasi (mendapatkan koloni tunggal) diambil beberapa tabung pengenceran terakhir.

b. Teknik Penanaman dengan Goresan (*Streak*)

Bertujuan untuk mengisolasi mikroorganisme dari campurannya atau meremajakan kultur ke dalam medium baru.

- **Teknik Pewarnaan**

Mikroorganisme yang ada di alam ini mempunyai morfologi, struktur dan sifat-sifat yang khas, begitu pula dengan bakteri. Bakteri yang hidup hampir tidak berwarna dan kontras dengan air, dimana sel-sel bakteri tersebut disuspensikan. Salah satu cara untuk mengamati bentuk sel bakteri, sehingga mudah untuk diidentifikasi ialah dengan metode pengecatan atau pewarnaan. Hal tersebut juga

berfungsi untuk mengetahui sifat fisiologisnya yaitu mengetahui reaksi dinding sel bakteri melalui serangkaian pengecatan (Jawetz, 1986).

Tujuan dari pewarnaan adalah untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Pelczar dan Chan, 1986).

Zat warna adalah senyawa kimia berupa garam-garam yang salah satu ionnya berwarna. Garam terdiri dari ion bermuatan positif dan ion bermuatan negatif. Senyawa-senyawa kimia ini berguna untuk membedakan bakteri-bakteri karena reaksinya dengan sel bakteri akan memberikan warna berbeda. Perbedaan inilah yang digunakan sebagai dasar pewarnaan bakteri. Sel-sel warna dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu asam dan basa. Warna terletak pada muatan positif dari zat warna, maka disebut zat warna basa. Warna terdapat pada ion negatif, maka disebut zat warna asam. Contoh zat warna basa adalah methylen blue, safranin, netral red, dan lain-lain. Anionnya pada umumnya adalah Cl^- , SO_4^- , CH_3COO^- , COOHCOO^- . Pewarnaan bakteri dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti : fiksasi, peluntur warna, substrat, intensifikasi pewarnaan dan penggunaan zat warna penutup (Sutedjo, 1991).

Metode pengecatan pertama kali ditemukan oleh Christian Gram pada tahun 1884. Metode ini, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu bakteri Gram positif dan Gram negatif yang didasarkan dari reaksi atau sifat bakteri terhadap cat tersebut. Reaksi atau sifat bakteri tersebut ditentukan oleh komposisi dinding

selnya, sehingga pengecatan gram tidak bisa dilakukan pada mikroorganisme yang tidak mempunyai dinding sel (Tryana, 2008).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu cawan petri (Pyrex), labu Erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), mikroskop, inkubator (Heraeus), oven, neraca analitik (O'hauss), gelas objek, gelas penutup, batang L, sendok tanduk, autoklaf (American), enkas, pipet tetes, batang pengaduk, ose lurus dan bulat, kantong plastik, *ice box*, rak tabung, Laminary Air Flow (Esco), kamera, dan bunsen.

III. 2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu daun padi Pulu Mandoti, bacto pepton, ekstrak ragi, beef ekstrak, bacto agar, sukrosa, pepton, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, agar, proteose pepton, manitol, yeast ekstrak, $CaCO_3$, glycerol, tripton, soya pepton, NaCl, kristal violet, minyak imersi, aluminium foil, safranin, alkohol 70%, kapas, kasa steril, NaCl fisiologis 0,97%, tissue roll, cling wrap, spiritus, korek api, kertas label, dan aquades.

III. 3 Prosedur Kerja

III. 3.1 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel daun dilakukan secara aseptis. Sampel daun yang diambil adalah daun yang sehat terletak relatif jauh dari permukaan tanah agar tidak terkontaminasi mikroba yang berasal dari tanah. Jumlah daun yang diambil 5 helai

dan selanjutnya dimasukkan ke dalam kantong plastik. Selanjutnya sampel daun disimpan dalam *ice box* selama perjalanan untuk menghindari pembusukan.

III. 3.2 Sterilisasi

Semua alat yang digunakan dibersihkan terlebih dahulu. Alat-alat terutama dari bahan gelas yang akan digunakan dalam penelitian ini harus disterilkan lebih dahulu untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari berbagai jenis mikroorganisme yang dapat menggagalkan penelitian. Alat yang terbuat dari gelas atau kaca disterilkan dengan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam misalnya ose dicuci dengan alkohol 70% kemudian dipijarkan di atas api bunsen sampai membara. Sterilisasi medium dengan menggunakan panas basah bertekanan dengan menggunakan autoklaf dengan pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15-30 menit.

III. 3.3 Pembuatan Medium

a. Medium Kompleks Padat (*Nutrient Agar*)

Bahan-bahan yang digunakan adalah air akuades 1000 ml, bacto pepton 5 g, ekstrak ragi 5 g, dan bacto agar 20 g. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam air aquades dengan pemanasan sehingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C .

b. Medium King's B

Bahan-bahan yang digunakan adalah proteose peptone No.3 20 g, glycerol 15 ml, K_2HPO_4 1,5 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 1,5 g, agar 20 g, dan air aquades 1000 ml. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan

ke dalam akuades dengan pemanasan kemudian disterilkan dalam autoklaf pada tekanan 2 atm suhu 121°C selama 15 menit.

c. Medium SPA (Sucrose Peptone Agar)

Bahan-bahan yang digunakan adalah sukrosa 20 g, pepton 5 g, K_2HPO_4 0,5 g, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,25 g, agar 15 g, air akuades 1000 ml. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan ke dalam aquades dengan pemanasan. Setelah itu disterilkan ke dalam otoklaf pada tekanan 2 atm suhu 121°C selama 15 menit.

d. Medium TSA (Tryptic Soy Agar)

Bahan-bahan yang digunakan adalah tripton 15 g, soya pepton 5 g, NaCl 5 g, dan agar 15 g untuk 1000 ml akuades. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan ke dalam air aquades dengan pemanasan. Setelah itu disterilkan ke dalam autoklaf pada tekanan 2 atm suhu 121°C selama 15 menit.

e. Pembuatan NaCl 0.97%

Sebanyak 9 g NaCl ditimbang lalu dilarutkan dalam 1 liter aquades steril. Selanjutnya larutan dihomogenkan dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit.

f. Pembuatan Nutrien Cair (*Nutrient Broth*)

Bahan-bahan yang diperlukan adalah air aquades 1000 ml, baktipepton 5 g, dan ekstrak ragi 5 g. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam aquades dengan pemanasan sehingga semua bahan

larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C.

g. Medium Nitrogen Free Manitol Agar

Bahan-bahan yang digunakan adalah manitol 10 g, yeast ekstrak 0,2 g, K₂HPO₄ 0,5 g, MgSO₄.7H₂O 0,4 g, NaCl 0,1 g, CaCO₃ 5 g, agar-agar 18 g, dan aquades 1000 ml. Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan lalu dimasukkan ke dalam Erlenmeyer kemudian dilarutkan dalam aquades 1000 ml dan diatur pH-nya menjadi 7, lalu dipanaskan sampai semua bahan larut, sebagian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan tabung reaksi sebanyak 9 ml kemudian ditutup dengan kapas. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Setelah steril tabung reaksi tersebut kemudian diletakkan pada posisi miring hingga memadat.

III. 3.4 Isolasi Bakteri Secara Umum (Wahyudi, dkk., 2011)

Daun tanaman padi dipisahkan dari batangnya kemudian dipotong-potong kecil dan ditimbang sebanyak 5 gram. Setelah dipotong-potong kemudian direndam dalam 45 ml larutan garam fisiologis 0,97%. Suspensi dimasukkan ke dalam medium NB (*nutrient broth*) kemudian ditanam pada medium spesifik. Selanjutnya dilakukan pemurnian koloni dengan metode gores kuadran pada medium spesifik hingga diperoleh koloni tunggal.

III. 3.5 Isolasi Bakteri

- Bakteri *Pseudomonas* (Rukayadi, 1995)

Isolat kultur bakteri digoreskan ke dalam medium King's B 10%. Cawan diinkubasi selama 2-3 hari, kemudian mengamati koloni bakteri *Pseudomonas*.

Koloni bakteri berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B (Arwiyanto, dkk., 2007).

- Bakteri *Xanthomonas* (Fahy dan Hayward, 1983)

Isolasi bakteri dari ditumbuhkan pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar), isolat bakteri digoreskan pada medium SPA, diinkubasi selama 48-72 jam sampai didapatkan koloni. Koloni bakteri *Xanthomonas* berwarna kuning dan berbentuk bulat (Djarmiko, dkk., 2011).

- Bakteri *Bacillus* (Eliza, dkk., 2007)

Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium TSA. Isolat bakteri digoreskan ke dalam cawan petri yang berisi medium TSA (Tryptic Soy Agar). Setelah itu diinkubasi selama 48 jam. Koloni bakteri warnanya putih, bentuk koloni bundar, tepi koloni licin, elevasinya timbul serta sifat koloninya tebal, berlendir dan sedikit transparan (Maryanto dan Hari, 2011).

- Bakteri *Azotobacter*

Pencarian inokulum dilakukan dengan menumbuhkannya pada medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar). Koloni *Azotobacter sp.* dalam medium Nitrogen Free Manitol Agar yaitu licin, mengkilap, pada awalnya berwarna putih kemudian berkembang menjadi lendir yang berlimpah dan berwarna coklat jika diinkubasi dalam jangka waktu yang lama (Astuti, 2006).

III. 3.6 Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri dan Sel

Untuk identifikasi bakteri meliputi bentuk koloni, warna koloni, tengah koloni, permukaan koloni, dan tepi koloni.

III. 3.7 Uji Gram

Pengujian ini dilakukan dengan terlebih dahulu membuat olesan isolat pada kaca preparat. Kemudian dikeringkan dengan pembakar spiritus. Kemudian preparat ditetesi dengan kristal violet dan didiamkan selama 30 detik. Setelah itu, preparat dicuci dengan etil alkohol 95%. Selanjutnya, preparat dicuci dengan aquades kemudian dikeringanginkan. Selanjutnya, preparat ditetesi dengan safranin dan didiamkan selama 30 detik kemudian dicuci dengan aquades mengalir dan dikeringanginkan. Selanjutnya preparat diamati di bawah mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000 kali untuk mengetahui reaksi uji gramnya.

III. 3. 8 Uji Endospora

Identifikasi bakteri juga dilakukan dengan cara uji endospora dengan metode Scaeffler Fulton. Pengujian ini dilakukan dengan terlebih dahulu membersihkan preparat dengan alkohol kemudian dipanaskan di atas nyala api pembakar spiritus. Kemudian diambil 1 ose aquades steril secara aseptis dan diletakkan di atas gelas objek. Selanjutnya diambil secara aseptis 1 ose biakan bakteri dan dicampur hingga menjadi suspensi yang homogen dan rata lalu difiksasi di atas pembakar spiritus. Objek gelas lalu ditetesi dengan malachite green selama 10 menit sambil dipanaskan di atas pembakar spiritus, pemanasan diatur jangan sampai mendidih atau kering. Kemudian gelas objek dicuci dengan aquades mengalir selama 30 detik lalu dibubuhkan cat safranin selama 1 menit. Dicuci dengan air mengalir lalu dikeringanginkan, setelah itu diamati di bawah mikroskop dengan bantuan minyak imersi.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV. 1 Pertumbuhan Pada Medium Spesifik

Isolat-isolat bakteri yang diperoleh disuspensikan ke dalam NaCl fisiologis kemudian ditumbuhkan ke dalam medium Enrichment (medium diperkaya). Hasil pertumbuhan pada medium Enrichment selanjutnya diinokulasikan pada medium spesifik untuk mendapatkan isolat bakteri yang lebih spesifik dengan menggunakan metode goresan kuadran. Hal ini dilakukan berkali-kali sampai diperoleh isolat yang murni (kultur murni).

Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri meliputi warna koloni, bentuk koloni, tepi koloni dan elevasi koloni ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Filosfer dari Daun Padi Pulu' Mandoti dari Kabupaten Enrekang yang Ditumbuhkan Pada Medium Spesifik

Isolat	Medium Spesifik	Pengamatan ciri morfologi koloni				
		Warna	Bentuk	Permukaan	Tepi	Elevasi
A	Medium King's B	Kekuningan	<i>circular</i>	Halus mengkilap	<i>entire</i>	<i>Convex</i>
B	Medium SPA	Putih kekuningan	<i>circular</i>	Halus mengkilap	<i>entire</i>	<i>Convex</i>
C	Medium NFMA	Putih	<i>circular</i>	Halus mengkilap	<i>entire</i>	<i>Convex</i>
D	Medium TSA	Putih	<i>circular</i>	Halus mengkilap	<i>entire</i>	<i>Convex</i>

Keterangan: Medium SPA (Sucrose Peptone Agar), Medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar), dan Medium TSA (Tryptic Soy Agar)

Medium spesifik yang digunakan adalah medium King's B untuk mengamati bakteri *Pseudomonas*, medium SPA (Sucrose Peptone Agar) untuk mengamati bakteri *Xanthomonas*, medium TSA (Tryptic Soy Agar) untuk

mengamati bakteri *Bacillus*, dan medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar) untuk mengamati bakteri *Azotobacter*.

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium King's B memiliki ciri dengan warna kekuningan, pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri dengan warna putih kekuningan, pada medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar) memiliki ciri dengan warna koloni putih, dan pada medium TSA (Tryptic Soy Agar) memiliki ciri dengan warna koloni putih.

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium King's B memiliki ciri dengan bentuk koloni bulat (*circular*), pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri dengan bentuk *circular* (bulat), pada medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar) memiliki ciri dengan bentuk koloni bulat (*circular*), pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri dengan bentuk *circular* (bulat).

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium King's B, medium SPA (Sucrose Peptone Agar), medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar), dan medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri bentuk dengan tepi koloni yang *entire*.

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada medium King's B memiliki ciri dengan tepi koloni halus mengkilap dan memiliki elevasi *convex* (cembung), pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri dengan permukaan koloni halus mengkilap dan memiliki elevasi yang *convex* (cembung), pada medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar) memiliki ciri permukaan koloni halus mengkilap dan memiliki elevasi *convex*, pada medium TSA (Tryptic Soy Agar) memiliki permukaan koloni halus mengkilap dan memiliki elevasi yang *convex*.

Menurut Arwiyanto, dkk. (2007) koloni bakteri *Pseudomonas sp.* yang ditumbuhkan pada medium King's B berbentuk bulat, tepi rata, fluidal dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan pada medium King's B. Menurut Djatmiko, dkk. (2011) koloni bakteri *Xanthomonas sp.* yang ditumbuhkan pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) berwarna kuning dan berbentuk bulat. Menurut Maryanto dan Hari (2011) koloni bakteri *Bacillus sp.* yang ditumbuhkan pada medium TSA (Tryptic Soy Agar) warnanya putih, bentuk koloni bundar, tepi koloni licin, elevasinya timbul serta sifat koloninya tebal, berlendir dan sedikit transparan. Menurut Astuti (2006) koloni *Azotobacter sp.* dalam medium Nitrogen Free Manitol Agar yaitu licin, mengkilap, pada awalnya berwarna putih kemudian berkembang menjadi lendir yang berlimpah dan berwarna coklat jika diinkubasi dalam jangka waktu yang lama.

IV. 2 Pengamatan Morfologi Sel, Pewarnaan, dan Uji Endospora

Tujuan dari pewarnaan adalah untuk memudahkan melihat bakteri dengan mikroskop, memperjelas ukuran dan bentuk bakteri, untuk melihat struktur luar dan struktur dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, menghasilkan sifat-sifat fisik dan kimia yang khas daripada bakteri dengan zat warna, serta meningkatkan kontras mikroorganisme dengan sekitarnya (Pelczar dan Chan, 1986).

Dari hasil pengamatan pada uji gram dan endospora diperoleh hasil seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengamatan Morfologi Sel, Pewarnaan, dan Uji Endospora

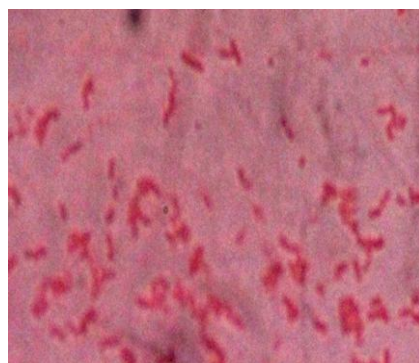
Isolat	Medium Spesifik	Warna	Bentuk	Sifat Gram	Endospora	Dugaan Genera
A	SPA	merah	Batang	Negatif	-	<i>Xanthomonas</i>
B	TSA	ungu	batang	Positif	+	<i>Bacillus</i>
C	NFMA	merah	bulat	Negatif	-	<i>Azotobacter</i>
D	King's B	merah	batang	Negatif	-	<i>Pseudomonas</i>

Keterangan: Endospora : - (tidak membentuk endospora)

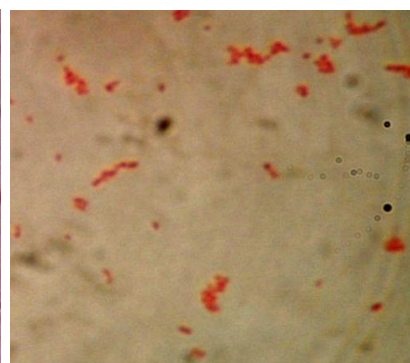
+ (membentuk endospora)

Medium SPA (Sucrose Peptone Agar), Medium TSA (Tryptic Soy Agar), dan Medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar)

Isolat bakteri A yang ditumbuhkan pada medium SPA (Sucrose Peptone Agar) memiliki ciri bentuk batang (basil), berwarna merah, Gram negatif dan tidak memiliki spora. Isolat bakteri B yang ditumbuhkan pada medium TSA (Tryptic Soy Agar) memiliki ciri bentuk batang (basil), berwarna ungu, Gram positif, dan memiliki endospora. Isolat bakteri C yang ditumbuhkan pada medium NFMA (Nitrogen Free Manitol Agar) memiliki ciri bentuk bulat (coccus), berwarna merah, Gram negatif, dan tidak memiliki spora. Isolat bakteri D yang ditumbuhkan pada medium King's B memiliki ciri bentuk batang (basil), berwarna merah, Gram negatif, dan tidak memiliki spora. Hasil pengamatan bakteri di bawah mikroskop seperti pada Gambar 2.



a



b