

**IDENTIFIKASI BAKTERI FILOSER
PADI AROMATIK PARE BAU
DARI KABUPATEN TANA TORAJA SULAWESI SELATAN**

MARINI FITRIANTY M.

H411 08 267



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

**IDENTIFIKASI BAKTERI FILOSER
PADI AROMATIK PARE BAU
DARI KABUPATEN TANA TORAJA SULAWESI SELATAN**

*Skripsi Ini Dibuat untuk Melengkapi Tugas Akhir dan Memenuhi Syarat Untuk Memperoleh
Gelar Sarjana Biologi*

MARINI FITRIANTY M.

H411 08 267

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

LEMBAR PENGESAHAN

**IDENTIFIKASI BAKTERI FILOSFER
PADI AROMATIK PARE BAU
DARI KABUPATEN TANA TORAJA SULAWESI SELATAN**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

Drs. As'adi Abdullah, M. Si
NIP. 19620303 198903 1 007

Pembimbing Pertama

Pembimbing Kedua

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

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

KATA PENGANTAR



Assalamu 'Alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh...

Alhamdulillah rabbil'alamin. Puja dan puji syukur senantiasa tercurah untuk Allah Subhanahu wata'ala, satu-satunya Tuhan yang haq untuk disembah, yang hanya dari-Nya ilmu dan segala kemampuan hidup itu bersumber. Shalawat dan salam terkirim untuk Nabi Muhammad Shallallahu 'alaihi wassallam, Nabi yang telah mengantar umat manusia menuju peradaban ilmu (atas izin Allah), juga kepada keluarga Beliau, Sahabat, dan orang-orang yang senantiasa berdiri tegak mengikuti jalan-Nya. Atas Rahmat dan Hidayah-Nya akhirnya penulis berhasil menyelesaikan tugas akhir ini sebagai salah satu syarat wajib untuk melulusi jenjang akademik dan meraih gelar sarjana di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar.

Penulis juga ingin memberikan penghargaan dan rasa terima kasih yang setinggi-tingginya kepada kedua orang tua penulis, dua orang yang paling berpengaruh dalam hidup penulis, Almarhum Ayahanda Maramis dan Ibunda Hasni atas segala didikan, ilmu, pelajaran, dukungan tiada henti, kepercayaan, cinta, kasih sayang yang telah diberikan dan memenuhi hidup penulis yang tidak akan tergantikan dalam hati.

Penulisan tugas akhir dan pencapaian akademik sampai sejauh ini tidak terlepas dari bimbingan, dukungan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin memberikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada :

- a. Bapak Rektor Universitas Hasanuddin Makassar beserta para staf
- b. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta para staf.
- c. Bapak Ketua jurusan, Dr. Eddy Soekandarsi, M.Sc, Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin.
- d. Bapak dan Ibu dosen Jurusan Biologi FMIPA UNHAS, yang telah memberikan dan berbagi ilmu, bimbingan dan dukungan selama penulis dalam masa perkuliahan. Semoga penulis bisa memanfaatkan ilmu yang telah diberikan dan mencapai cita-cita sesuai harapan penulis.
- e. Bapak Drs. Muhammad Ruslan Umar, M.Si, selaku penasehat akademik yang telah banyak membantu penulis selama masa perkuliahan.
- f. Kepada ketiga pembimbing, Bapak Drs. As'adi Abdullah, Ibu Dr. Nur Haedar, M. Si serta Ibu Dr. Hj. A. Masniawati, M.Si, yang telah memberikan masukan, ilmu, dukungan dan motivasi kepada penulis mulai dari proposal hingga selesainya penulisan tugas akhir ini. Semoga segala bantuan dan kemudahan yang diberikan mendapat balasan yang paling baik dari Allah SWT.
- g. Tim penguji skripsi yang telah memberikan banyak masukan yang mendukung dalam penyelesaian tugas akhir.
- h. Saudara-saudaraku warga Biologi angkatan 2008 "Mastoideus", terima kasih atas segala dukungan, motivasi, saran dan kritiknya, perasaan senang, sedih, haru biru yang kita lalui bersama sejak awal hingga terselesaikannya skripsi ini. Kebersamaan kita takkan terlupakan dan tergantikan oleh siapa pun dan apa pun itu. Terkhusus buat teman-teman Padi Belle yang sedikit banyaknya

telah membantu selama perjalanan menyelesaikan penelitian ini, terima kasih atas dukungan kalian.

- i. Seluruh jajaran pengelola di Laboratorium Bioteknologi Pertanian Pusat Kegiatan Penelitian serta rekan kerja terima kasih atas kerjasamanya dan telah membantu dalam proses penelitian.
- j. Rekan kerja di Laboratorium Mikrobiologi, Ibu Ir. Haisa Hanna, Kakak Fuad Gani S. Si, Kakak Ratmi Umar, terima kasih sudah membantu dan membuat hari-hari di laboratorium lebih menyenangkan.
- k. Penghuni Pondok Nirwana II yang telah mengisi hari-hari penulis walaupun hanya dalam jangka waktu beberapa bulan, kebersamaan kita sangat berkesan.
- l. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan tugas akhir ini masih memiliki kekurangan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritikan yang sifatnya positif demi perbaikan tugas akhir ini. Semoga tugas akhir ini bisa bermanfaat bagi siapapun yang membutuhkan. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat hidayah-Nya bagi kita semua. Amin...

Makassar, Juni 2013

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian dengan judul identifikasi bakteri filosfer padi aromatik Pare Bau dari Kabupaten Tana Toraja Sulawesi Selatan pada bulan November 2012 hingga Februari 2013. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi genera bakteri yang terdapat pada daerah filosfer daun Pare Bau. Isolasi bakteri dilakukan dengan metode enrichment culture kemudian ditumbuhkan pada media spesifik. Hasil penelitian ini menunjukkan morfologi koloni bakteri yang didapatkan beragam, morfologi selumumnya berbentuk basil dan satu berbentuk kokus. Hasil uji sifat gram menunjukkan satu isolat merupakan gram positif dan menghasilkan endospora dan isolat lainnya merupakan gram negative dan tidak menghasilkan endospora. Hasil pengamatan pada media spesifik menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri dari genus *Azotobacter*, *Bacillus*, *Xanthomonas* dan *Pseudomonas*.

Kata kunci: bakteri filosfer, padi aromatik, Pare Bau, Tana Toraja.

ABSTRACT

The research about identification phyllosphere bacteria on the aromatic rice Pare Bau from Tana Toraja regency, South Sulawesi had been done in November 2012 to Februari 2013. The aim of the research to identify the genus of bacteria on the phyllosphere area of Pare Bau. The process isolation of bacteria carried by the enrichment culture method then grown in specific media. The results of this research show that colony morphological of bacteria are variates and the shapes of cells are basils and coccus. Result of gram staining indicates one isolate is positive gram then produce endospora and the other are negative grams, they are not produce endospora. The observation on the specific media indicates growth of bacteria from genus *Azotobacter*, *Bacillus*, *Xanthomonas* and *Pseudomonas*.

Keywords: phyllosphere bacteria, aromatic rice, Pare Bau, Tana Toraja.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB. I PENDAHULUAN	
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	
II.1 Tinjauan Umum Bakteri.....	5
II.2 Bakteri Filosfer	5
II.3 Tinjauan Umum Padi	13
II.4 Padi Lokal di Kabupaten Tana Toraja.....	16

BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Alat	18
III.2 Bahan	18
III.3 Metode Kerja	18
III.3.1 Sterilisasi Alat	18
III.3.2 Pembuatan Medium	19
III.3.2.1 Pembuatan NaCl Fisiologis 0,97%	19
III.3.2.2 Pembuatan Medium Nutrient Agar	19
III.3.2.3 Pembuatan Medium Nutrient Broth	19
III.3.2.4 Pembuatan Medium Tryptic Soy Agar (TSA)	20
III.3.2.5 Pembuatan Medium King's B	20
III.3.2.6 Pembuatan Medium Sucrose Peptone Agar	20
III.3.2.7 Pembuatan Medium Nitrogen Free Manitol Agar ..	21
III.3.3 Penyiapan Sampel	21
III.3.4 Isolasi Bakteri Spesifik	21
A. Bakteri <i>Pseudomonas</i> sp	22
B. Bakteri <i>Bacillus</i> sp	22
C. Bakteri <i>Xanthomonas</i> sp	22
D. Bakteri <i>Azotobacter</i> sp	23
III.3.5 Identifikasi Bakteri	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri	24
IV.2 Hasil Pengamatan Morfologi Sel dan Sifat Gram Isolat Bakteri	26

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan	32
V.2 Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33
LAMPIRAN.....	36

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri pada Beberapa Medium	
Spesifik.....	24
2. Pengamatan Morfologi Sel dan Sifat Gram Bakteri	26

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Koloni <i>Pseudomonas aeruginosa</i> pada Medium Agar	10
2. Koloni <i>Xanthomonas campestris</i> pada Medium Agar	11
3. Koloni <i>Azotobacter</i> pada Medium Nitrogen-Free Agar	12
4. <i>Bacillus</i> sp. Dan Endospora yang Dihasilkan	13
5. Morfologi Tanaman Padi <i>Oryza sativa</i> L.....	14
6. Hasil Uji Perwarnaan Gram Bakteri dengan Perbesaran 1000x	27
7. Hasil Uji Perwarnaan Endospora Bakteri yang tumbuh pada media TSA dengan Perbesaran 1000x	29

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja Isolasi Bakteri Filosfer	36
2. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pada Media Spesifik	37

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Keragaman bakteri bisa dilihat dari berbagai macam sudut pandang, seperti morfologi, fisiologi, dan genetik. Tiap-tiap habitat yang berbeda memberikan keragaman yang berbeda pula, contohnya adalah daun, habitat yang banyak dihuni oleh bakteri. Tiap tanaman mempunyai daun yang berbeda, baik bentuk, ukuran, maupun eksudat yang dikeluarkannya. Perbedaan ini menyebabkan mikroba yang menghuni juga berbeda walaupun pada tanaman tertentu ditemukan populasi bakteri yang sama (Santosa, dkk., 2003).

Mikroba yang hidup pada daun tanaman disebut mikroba filosfer yang berasal dari tanah, air, udara, tanaman lain, atau dibawa oleh binatang khususnya insekta yang biasa ditemukan pada stomata, di sepanjang tulang daun dan dinding sel epidermis. Salah satu mikroba yang merupakan penghuni dari filosfer yaitu bakteri, yang 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. Bakteri filosfer dikelompokkan sebagai bakteri endofit, epifit (atau filosfer), dan fitopatogen. Bakteri endofit itu sendiri merupakan mikroba yang berkoloni pada jaringan tanaman sehat, terutama hidup pada jaringan vaskular tanaman, dan filosfer adalah habitat alami bagi mikroba epifit sehingga mikrobanya disebut mikroba filosfer (Barkeley University, 2000; Santosa, dkk., 2003).

Studi tentang komposisi bakteri pada daun telah banyak tapi agak terbatas cakupannya. Pada umumnya diyakini bahwa populasi pada filosfer berupa bakteri aerobik. Pada daun didominasi oleh beberapa genera. Beberapa studi lengkap tentang variasi dalam komunitas mikroba daun selama beberapa waktu dan ruang skala telah menyediakan pengetahuan penting yang terperinci tentang identitas dan ekologi dari bakteri daun. Sejumlah peneliti menganalisis 1236 strain bakteri dari berbagai fase tumbuh dan umur tanaman lobak gula (Fradzan, 2012).

Werner (1992) melaporkan bahwa spesies bakteri yang paling sering dijumpai pada filosfer adalah *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Archromobacterium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, dan *Azotobacter*. Bakteri ini dapat menghuni daerah filosfer pada tanaman apa saja, tak terkecuali pada tanaman padi.

Tanaman padi lokal ada yang bersifat nonaromatik dan aromatik. Padi aromatik merupakan padi dengan kualitas yang baik dan memiliki aroma khas serta memiliki tekstur nasi pulen dan umumnya disenangi oleh konsumen. Di Sulawesi Selatan, padi aromatik ini banyak ditumbuhkan di daerah pegunungan seperti di Kabupaten Tana Toraja.

Tana Toraja merupakan daerah pegunungan dengan lembah-lembah dan bukit-bukit yang memiliki kemiringan yang berbeda-beda dari yang landai sampai yang terjal. Daerahnya subur dengan kegiatan pertanian sebagai keseharian aktivitas masyarakatnya. Usaha pertanian di Tana Toraja meliputi pertanian sawah baik sawah tadah hujan maupun sawah pengairan. Menurut Bupati Tana Toraja, Toraja memiliki 3 varietas padi unggul yang memiliki spesifikasi yang tidak

dimiliki oleh daerah lain yang sudah bisa dikonsumsi oleh masyarakat di luar Toraja yang akan di ekspor ke luar negeri yaitu Pare Bau, Pare Ambo dan Pare Barri (Lembang, 2012; Mangesa, 2012, Manggasa, 2010).

Pare Bau merupakan padi lokal di Kabupaten Tana Toraja yang juga termasuk ke dalam golongan padi aromatik yang memiliki kulit berwarna hitam dengan isi berwarna putih. Penanaman jenis padi ini masih menerapkan konsep tradisional atau konvensional baik dari segi pembibitan, pemeliharaan, hingga pemanenan. Petani yang menanam padi lokal tersebut hanya mengandalkan pupuk organik dan alam sekitar yang menumbuhkan padinya tanpa memberikan bahan-bahan kimia baik itu berupa pupuk maupun pestisida pada tanaman padi mereka. Oleh karena itu, maka dilakukanlah penelitian ini untuk mengidentifikasi beberapa genera bakteri filofit yang terdapat pada daun Pare Bau di dataran tinggi Kabupaten Tana Toraja Sulawesi Selatan.

I.2. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengidentifikasi beberapa genera bakteri yang terdapat pada daerah filofit daun Pare Bau yang terdapat di Kabupaten Tana Toraja, Sulawesi Selatan.

I.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang keberadaan beberapa genera bakteri yang terdapat pada daerah filofit pada permukaan daun dari tanaman padi lokal Pare Bau yang terdapat di Kabupaten Tana Toraja, Sulawesi Selatan.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2012 hingga bulan Februari 2013. Pengambilan sampel dilakukan di Kabupaten Tana Toraja. Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Pertanian, Pusat Kegiatan Penelitian, Universitas Hasanuddin, Makassar.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Tinjauan Umum Bakteri

Jasad hidup yang ukurannya kecil sering disebut sebagai mikroba, mikroorganisme, atau jasad renik. Jasad renik disebut sebagai mikroba bukan karena hanya ukurannya yang kecil, sehingga sukar dilihat dengan mata, tetapi juga pengaturan kehidupannya yang lebih sederhana dibandingkan dengan jasad tingkat tinggi. Secara kasat mata, kita tidak dapat melihat jasad yang ukurannya kurang dari 0,1 mm. Ukuran mikroba biasanya dinyatakan dalam mikron (1 mikron mikroba adalah 0,001 mm). Sel mikroba umumnya hanya dapat dilihat dengan alat pembesar atau mikroskop. Walaupun demikian, ada mikroba yang berukuran besar sehingga dapat dilihat tanpa alat pembesar (Sumarsih, 2003).

Bakteri merupakan organisme yang mempunyai penyebaran terluas di alam. Hal tersebut karena bakteri mampu hidup pada berbagai habitat dan mampu menguraikan senyawa-senyawa kompleks menjadi senyawa-senyawa yang lebih sederhana untuk memperoleh zat-zat tertentu yang dibutuhkan dalam rangka mempertahankan hidupnya (Hatmanti, 2000).

II.2 Bakteri Filosfer

Keragaman bakteri bisa dilihat dari berbagai sudut pandang seperti; morfologi, fisiologi, dan genetik. Tiap-tiap habitat yang berbeda memberikan keragaman yang berbeda pula. Contoh habitat yang sering dihuni oleh bakteri adalah daun. 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. Filosfer merupakan salah satu habitat mikroorganisme saprofit. Beberapa di antaranya merupakan mikroorganisme antagonis. (Santosa, dkk., 2003).

Beberapa spesies mikroba dapat diisolasi dari dalam jaringan tanaman, lebih banyak lagi muncul dari permukaan organ tanaman yang sehat seperti pada daun. Meskipun telah ada beberapa penyelidikan koloni mikroba dari tunas dan bunga sebagian besar penelitian tentang mikrobiologi filofosfer difokuskan pada areal daun. Merupakan mikroba yang paling banyak mendominasi daun, bahkan seringkali ditemukan dalam jumlah rata-rata 10^6 - 10^7 cells/cm² (hingga 10^8 sel / g) daun. Komunitas mikroba pada daun beragam dan mencakup berbagai genera bakteri, jamur, ragi, alga, kapang, protozoa dan nematoda. Jamur dianggap penghuni sementara permukaan daun hadir terutama sebagai spora, kemudian menghabiskan masa sporulasinya pada daun tersebut dengan cepat. Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling banyak menghuni filofosfer. Populasi bakteri parasitik cukup bervariasi disebabkan sebagian besar oleh fluktuasi keadaan fisik tanaman, fase dan umur tanaman. Populasi mikroorganisme filofosfer terutama dipengaruhi oleh lingkungan fisik yang fluktuatif dibandingkan dengan habitat di bawah permukaan tanah. Sebagai contoh, bakteri berpigmen, jarang ditemukan di rhizosfer, melainkan mendominasi permukaan daun, hal ini dikarenakan radiasi matahari mempengaruhi ekologi dari filofosfer (Fradzan, 2012).

Bakteri yang mendiami permukaan daun sangat bervariasi sesuai dengan jenis tanamannya oleh karena setiap tanaman menghasilkan eksudat tertentu yang sesuai dengan bakteri tertentu. Variasi tanaman dari dataran rendah ke dataran tinggi menyebabkan variasi bakteri yang hidup pada permukaan daunnya (Santosa, dkk., 2003).

Perbedaan lingkungan tumbuh daun dan akar bakteri lebih lanjut dibuktikan oleh kegagalan bakteri penghuni akar seperti *Rhizobium* dan *Azospirillum* untuk ditumbuhkan pada permukaan daun. Studi tentang komposisi bakteri pada daun telah banyak tapi agak terbatas cakupannya. Pada umumnya diyakini bahwa populasi pada filosfer berupa bakteri aerobik. Pada daun didominasi oleh beberapa genera. Beberapa studi lengkap tentang variasi dalam komunitas mikroba daun selama beberapa waktu dan ruang skala telah menyediakan pengetahuan penting yang terperinci tentang identitas dan ekologi dari bakteri daun. Sejumlah peneliti menganalisis 1236 strain bakteri dari berbagai fase tumbuh dan umur tanaman lobak gula. Mereka mengidentifikasi 78 spesies dan 37 diantaranya telah diidentifikasi dan 12 yang paling penting, seperti Ercolani, mereka menemukan pola-pola jenis bakteri dan jumlah berbeda pada waktu yang berbeda sepanjang tahun, dengan keragaman komunitas bakteri yang terendah selama musim kemarau dan tertinggi pada saat musim hujan. Mikroba filosfer telah dilihat terutama pada bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas syringae* dan *Erwinia (Pantoea) spp.* (Fradzan, 2012).

Bakteri yang hidup pada daun tanaman ini berasal dari tanah, air, udara, tanaman lain, atau dibawa oleh binatang khususnya insekta (Barkeley University,

2000). Bakteri filofit ditemukan pada stomata, di sepanjang tulang daun dan dinding sel epidermis. Bakteri ini 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. Bakteri filofit dikelompokkan sebagai bakteri endofit, epifit (atau filofit), dan fitopatogen. Mikroba endofit adalah mikroba yang berkoloni pada jaringan tanaman sehat, terutama hidup pada jaringan vaskular tanaman. Filofit adalah habitat alami bagi mikroba epifit sehingga mikroba ini disebut mikroba filofit (Santosa, dkk., 2003).

Werner (1992) melaporkan bahwa spesies bakteri yang paling sering dijumpai pada filofit adalah *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Flavobacterium*, *Archromobacterium*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, dan *Azotobacter*.

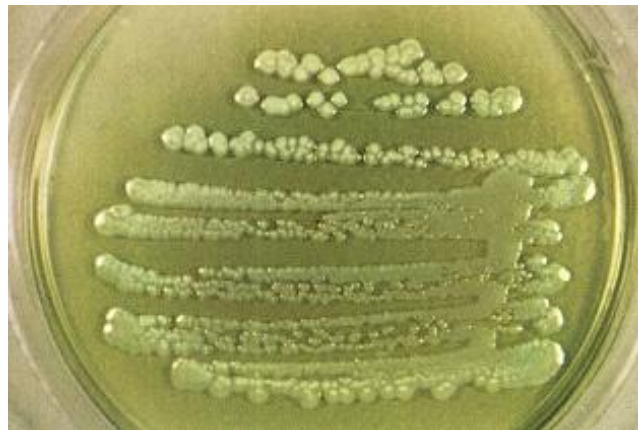
Pseudomonas memiliki kecenderungan untuk pertumbuhan di lingkungan lembab, yang mungkin merupakan cerminan dari keberadaan alam di tanah dan air yang merupakan salah satu bakteri yang paling cepat bergerak terlihat pada air rendaman jerami dan sampel air kolam, khas di alam ditemukan dalam sebuah biofilm, yang melekat pada beberapa permukaan atau substrat, atau dalam bentuk planktonik, organisme uniseluler, aktif bergerak dengan flagelnya, hampir semua strain motil dengan bentuk flagel monotrik dan merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang. *Pseudomonas* memiliki kebutuhan nutrisi yang sangat sederhana. Hal ini sering diamati yang tumbuh di air suling, yang merupakan bukti dari kebutuhan minimal yang gizi. Di laboratorium, media sederhana untuk pertumbuhan *Pseudomonas* terdiri dari asetat sebagai sumber karbon dan sulfat

amonium sebagai sumber nitrogen. *Pseudomonas* memiliki fleksibilitas metabolisme yang pseudomonad begitu terkenal. Faktor pertumbuhan organik yang tidak diperlukan, dan dapat menggunakan lebih dari tujuh puluh lima senyawa organik untuk pertumbuhan. Suhu optimum untuk pertumbuhan adalah 37°, dan mampu tumbuh pada suhu setinggi 42°. Hal ini toleran terhadap berbagai kondisi fisik, termasuk suhu. Hal ini tahan terhadap konsentrasi tinggi garam dan pewarna, antiseptik lemah, dan antibiotik yang umum digunakan banyak. (Todar, 2008).

Ada beberapa jenis dari genera *Pseudomonas* seperti *Pseudomonas fluorescens* dan *Pseudomonas aeruginosa*. *Pseudomonas fluorescens* mempunyai kelebihan yaitu dapat menjadi pengkolonisasi primer bagi akar tanaman sehingga dengan adanya kolonisasi akar oleh *Pseudomonas fluorescens* dalam waktu yang lama maka patogen seperti *Rhizoctonia solani* tidak dapat melakukan penetrasi kedalam tanaman (Kartika, 2008)

Isolat *P. aeruginosa* dapat menghasilkan tiga jenis koloni. Isolat dari tanah atau air biasanya menghasilkan koloni kecil kasar. Sampel klinis, secara umum, menghasilkan satu atau dua jenis koloni halus. Salah satu jenis memiliki penampilan goreng-telur yang besar, halus, dengan tepi rata dan penampilan tinggi. Tipe lain, sering diperoleh dari sekret saluran pernafasan dan urin, memiliki penampilan yang berlendir, yang dikaitkan dengan produksi lendir alginat. Koloni halus dan mukoid yang dianggap berperan dalam kolonisasi dan virulensi. Strain *Pseudomonas* menghasilkan dua jenis pigmen larut, yang pyoverdin pigmen fluorescent dan pyocyanin berupa pigmen biru. Pigmen biru ini

dihasilkan berlimpah. Pyocyanin (dari "pyocyaneus") mengacu pada "biru nanah", yang merupakan karakteristik infeksi supuratif disebabkan oleh *Pseudomonas aeruginosa* (Todar, 2008).



Gambar 1. Koloni *Pseudomonas aeruginosa* pada Medium Agar
<http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>
(Sumber: Todar, 2008)

Bakteri genus *Xanthomonas* merupakan mikroorganisme yang menyerupai *Pseudomonas* (kecil, motil, gram negatif berbentuk batang), aerobik, memproduksi pigmen kuning dan biasanya parasit pada tanaman. *Xanthomonas campestris* adalah spesies yang paling penting dari genus ini. Hal ini dibagi berdasarkan inang, distribusi geografis dan faktor lainnya. Sebagai contoh (Deacon, 2012):

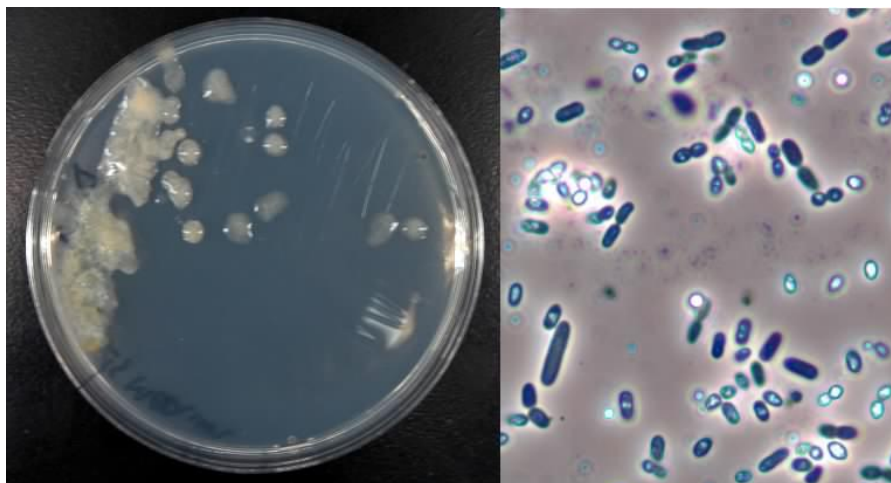
- a. *Xanthomonas campestris* menyebabkan lesi busuk coklat pada daun kubis dan kembang kol.
- b. *Xanthomonas oryzae* menyebabkan hawar daun padi, yang menyebabkan kerugian tanaman yang serius di Asia (misalnya India), Cina, dan Amerika.
- c. *Xanthomonas citri* menyebabkan kanker jeruk di Asia dan Amerika, membuat masalah ekonomi yang serius.

Namun, *Xanthomonas campestris* mungkin bahkan lebih penting sebagai sumber polisakarida komersial, xantan atau disebut permen karet xantan. Koloni *Xanthomonas campestris* bergerak pada lempeng agar-agar. Koloni menghasilkan lendir ekstraseluler berlebihan yang merupakan sebuah polisakarida kompleks terdiri dari lebih dari satu jenis gula (heteropolymer a). Hal ini disebut xantan dan memiliki kegunaan komersial yang penting sebagai gel yang stabil pada suhu relatif tinggi. Sekitar 20.000 ton xanthan diproduksi industri dari *X. campestris* setiap tahun. Hal ini digunakan sebagai pembentuk gel dan bahan stabilisasi di dressing salad, es krim, pasta gigi, kosmetik, cat berbasis air, dan lain-lain dan juga sebagai pelumas pengeboran di sumur minyak. Xantan sendiri tidak berwarna. Bakteri memiliki pigmen kuning pada dinding, tetapi diekstrak dengan pelarut organik sehingga tidak mengganggu proses komersial xantan (Deacon, 2012).



Gambar 2. Koloni *Xanthomonas campestris* pada Medium Agar
<http://www.biology.ed.ac.uk/archive/jdeacon/microbes/xanthan.htm>
(Sumber: Deacon, 2012)

Organisme dalam *Azotobacter* mampu menggunakan gula, alkohol dan garam-garam dari asam organik untuk pertumbuhan. Selama pertumbuhan, banyak spesies akan menghasilkan pigmen yang larut dalam air menyebabkan koloni organisme muncul dalam nuansa kuning, hijau, merah dan coklat. Sementara yang tumbuh pada gula, beberapa *Azotobacter* akan menghasilkan jumlah berlebihan dari polisakarida ekstraselular (EPS). Sering kali di laboratorium isolasi mikroorganisme ini akan menghasilkan EPS sehingga akan memiliki penampilan puding krim. Dalam kondisi membatasi gizi, organisme membentuk struktur istirahat yang disebut kista. Kista dapat digambarkan sebagai sel vegetatif dikemas dalam mantel tahan pengeringan. Mereka sangat resisten terhadap pengeringan dan bakteri ini dapat bertahan selama bertahun-tahun di negara ini (Microbiology Laboratories, 2012).

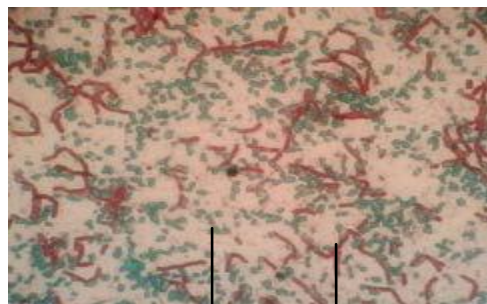


Gambar 3. Koloni *Azotobacter* pada Medium Nitrogen-Free Agar
<http://inst.bact.wisc.edu/inst/index>.

(Sumber: Microbiology Laboratories, 2012)

Bacillus spp. digolongkan ke dalam kelas bakteri heterofilik, yaitu protista bersifat uniseluler, termasuk dalam golongan mikroorganisme redusen atau yang lazim disebut sebagai dekomposer. Marga *Bacillus* merupakan bakteri yang

berbentuk batang dapat dijumpai di tanah dan di air termasuk pada air laut. Beberapa jenis menghasilkan enzim ekstraseluler yang dapat menghidrolisis protein dan polisakarida kompleks. *Bacillus* spp. membentuk endospora, merupakan gram positif, bergerak dengan adanya flagel peritrikus, dapat bersifat aerobik atau fakultatif anaerobik serta bersifat katalase positif. Marga *Bacillus* merupakan salah satu dari enam bakteri penghasil endospora. Endospora tersebut berbentuk bulat, oval, elips, atau silinder, yang terbentuk di dalam sel vegetatif. Endospora tersebut membedakan *Bacillus* dari tipe-tipe bakteri pembentuk eksospora. Spora *Bacillus* pertama kali dideskripsikan oleh Cohn pada tahun 1872 pada *Bacillus subtilis* yang semula disebut *Vibrio subtilis* oleh Ehrenberg pada 1835. Cohn menunjukkan bahwa spora tersebut mempunyai resistensi yang lebih dibandingkan sel vegetatifnya (Hatmanti, 2000).



A B

Keterangan: A. Endospora; B.Sel Vegetatif

Gambar 4. *Bacillus* sp. dan Endospora yang Dihasilkan
(Sumber: Diah, dkk., 2012)

II.3 Tinjauan Umum Padi

Tumbuhan padi termasuk golongan tumbuhan Graminae dengan batang yang tersusun dari beberapa ruas. Tanaman padi membentuk rumpun dengan anakannya, biasanya anakan akan tumbuh pada dasar batang. Pembentukan

anakan terjadi secara tersusun yaitu pada batang pokok atau batang batang utama akan tumbuh anakan pertama, anakan kedua tumbuh pada batang bawah anakan pertama, anakan ketiga tumbuh pada buku pertama pada batang anakan kedua dan seterusnya. Semua anakan memiliki bentuk yang serupa dan membentuk perakaran sendiri (Siroyudin, 2011).



Gambar 5. Morfologi Tanaman Padi *Oryza sativa* L.

<http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Padi.jpg>

(Sumber: Wikipedia, 2012)

Klasifikasi padi yaitu (Tjitrosoepomo, 2007):

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

Padi termasuk golongan tanaman semusim atau tanaman muda yaitu tanaman yang biasanya berumur pendek, kurang dari satu tahun dan hanya satu kali berproduksi, setelah berproduksi akan mati atau dimatikan. Tanaman padi dapat dikelompokkan dalam dua bagian yaitu (Aak, 2006) :

1. Bagian vegetatif, yaitu terdiri dari akar, batang dan daun.
2. Bagian generatif, yaitu terdiri dari malai atau bulir bunga dan bunga, buah dan bentuk gabah (biji).

Padi dapat hidup dengan baik di daerah yang berhawa panas dan banyak mengandung uap air. Dengan kata lain, padi dapat hidup dengan baik di daerah beriklim panas yang lembab (Pitojo, 2003).

Menurut Winarno (1984) dalam penelitian utama, tanaman padi adalah tanaman yang mempunyai varietas sampai ribuan jumlahnya, lebih dari 90% tumbuh di wilayah Asia Selatan dan Timur, tersebar di negara-negara beriklim subtropis. Dari kelompok spesies padi yang telah dibudidayakan terdapat dua kelompok utama yaitu *Oryza sativa* yang berasal dari Asia dan *Oryza glaberima* yang berasal dari Afrika Barat. Kini di dunia lebih banyak dikenal dua kelompok varietas padi *Oryza sativa* yaitu : japonica dan indica.

Menurut Grist (1975) padi japonica banyak ditanam di daerah Jepang, Korea, dan negara-negara subtropis. Sedangkan padi indica banyak ditanam di daerah tropis (khususnya Asia Tenggara).

Di Indonesia, varietas-varietas beras semakin banyak seiring berkembangnya pemuliaan bibit beras guna menghasilkan beras bermutu tinggi dengan masa panen 3 sampai 4 kali dalam setahun (Damardjati, 1981).

II.3. Padi Lokal di Kabupaten Tana Toraja

Kabupaten Tana Toraja adalah sebuah nama daerah dengan status Daerah Tingkat II di Kawasan Prov. Sulawesi Selatan, terbentang mulai dari Km 280 s/d Km 355 dari sebelah utara ibukota Provinsi Sulawesi Selatan (Makassar.) Tepatnya pada 2° - 3° LS dan 100° - 120° BT, dengan luas sekitar 3.205,77 Km². Kondisi Topografi daerah Tana Toraja berada di daerah pegunungan, berbukit dan berlembah; terdiri dari 40% pegunungan dengan memiliki ketinggian antara 150 m sampai dengan 3.083 m diatas permukaan laut. Kabupaten Tana Toraja merupakan daerah Agraris yang sebagian besar penduduknya mempunyai mata pencarian di sektor Perkebunan dan Pertanian (Tresna, 2009)

Sawah di Tana Toraja yang disebut uma, terdiri atas dua jenis, yaitu sawah tadah hujan dan sawah pengairan. Sawah tadah hujan adalah sawah yang pengairannya hanya mengharapkan dari turunnya hujan sedangkan sawah pengairan adalah sawah yang pengairannya dari sumber air di sekitar persawahan tersebut baik dari mata air yang ada di sekitar sawah, dam kecil atau dari sungai-sungai kecil atau besar yang melintasi sawah tersebut. Meski jarang ditemui, petani juga menanam padi darat di hutan khususnya di Lembang Balusu, sebelah utara Tana Toraja, ± 20 km dari terminal Bolu, kota Rantepao (Manggasa, 2010).

Ada dua jenis padi di Tana Toraja yaitu padi tradisional/lokal dan padi varietas baru atau bibit unggul. Padi lokal/tradisional, terdiri atas dua macam yaitu padi biasa dan padi ketan. Di Sangalla, daerah selatan Tana Toraja masyarakat mengenal (1) Sinambe, (2) Mappa, (3) Dambu, (4) Uni, (5) Kasalle, sebagai padi tradisional/lokal biasa sedangkan (1) Kombong, (2) Pulu' putih, (3) Pulu hitam

sebagai padi tradisional/lokal ketan. Di Nanggala, masyarakat mengenal (1) Pare Pulu (ketan) berwarna merah, putih (bahasa Toraja= Pare Kombong), hitam (Pare Lallodo), (2) Pare Lotong bentuknya hitam kemerah-merahan, (3) Pare Bulaan (beras biasa warnanya putih), (4) Pare Lea (berwarna merah), (5) Pare Bau (jenis padi campuran ketan dan beras biasa), (6) Pare Ambo, (7) Pare Loto-loto (warna berasnya tidak terlalu hitam-hitam kabur), (7) Pare Kaluku, (8) Pare Kolea (Manggasa, 2010).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf (American), oven (Heraeus), inkubator (Heraeus), neraca analitik, vortex (Thermolyne), hot plate, cawan petri (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), labu erlenmeyer (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), gelas piala (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), bunsen, mikro pipet, labu semprot, sendok tanduk, rak tabung, botol pengencer, batang L, batang pengaduk, corong, gelas objek, gelas penutup, pipet tetes, ose (lurus dan bulat), enkas, pinset, coolbox, mikroskop (Nikon), Laminary Air Flow.

III.2 Bahan

Bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah daun Pare Bau, aquades, beef ekstact, bacto pepton, bacto agar, yeast ekstrak, NaCl, tripton, soya pepton, proteose pepton No.3, gliserol, K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, sukrosa, manitol, yeast ekstrak, $CaCO_3$, larutan Hucker's cristal violet (gram A), larutan Mordan lugol iodine (gram B), alkohol aseton (gram C), safranin (gram D), larutan malachite green, kapas, aluminium foil, kertas label, kantong sampel, cling wrap, alkohol, spritus, korek api, dan kertas label.

III.3 Metode Kerja

III.3.1 Sterilisasi Alat

Semua alat yang akan digunakan disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat gelas dan yang terbuat dari logam disterilkan dalam oven pada suhu $180^{\circ} C$

selama 2 jam. Alat-alat plastik dan alat-alat yang tidak tahan suhu tinggi disterilkan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C tekanan 2 atm selama 15 menit, ose disterilkan dengan cara pemanasan langsung pada nyala api biru dan batang L disterilkan dengan menyemprotkan alkohol pada permukaannya dan membakarnya di atas api bunsen.

III.3.2 Pembuatan Medium

III.3.2.1 Pembuatan NaCl Fisiologis 0,97%

Sebanyak 9 gram NaCl ditimbang lalu dilarutkan dalam 1 liter akuades steril. Selanjutnya larutan dihomogenkan dan ditutup dengan kapas dan aluminium foil dan disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121 °C tekanan 2 atm selama 15 menit (Sinaga, 2010).

III.3.2.2 Pembuatan Medium Nutrient Agar

Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan, yaitu 3 gram beef ekstrak, 15 gram bacto agar, 2 gram yeast ekstrak, dan 5 gram bacto pepton, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Setelah larut, medium tersebut dipanaskan selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit. Kemudian dituang ke dalam cawan petri membiarkan hingga memadat (Cappucino dan Sherman, 2001).

III.3.2.3 Pembuatan Medium Nutrient Broth

Bahan ditimbang sebanyak yang dibutuhkan, yaitu 3 gram beef ekstrak, 2 gram yeast ekstrak, dan 5 gram bacto pepton, kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Setelah larut, medium

tersebut dipanaskan selanjutnya disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C dengan tekanan 2 atm selama 15 menit (Laboratorium Mikrobiologi, 2008).

III.3.2.4 Pembuatan Medium Tryptic Soy Agar (TSA)

Bahan ditimbang sebanyak 15 gram agar, 15 gram tripton, 5 gram soya pepton, 5 gram NaCl, kemudian dimasukkan ke dalam 1000 mL aquades. Panaskan hingga mendidih. Sesuaikan pH hingga mencapai 7 sebelum media diautoklaf. Sterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C. dengan tekanan 2 atm. Tuang ke dalam tabung atau cawan, biarkan hingga memadat (Eliza, dkk., 2007).

III.3.2.5 Pembuatan Medium King's B

Bahan ditimbang sebanyak 20 gram proteose pepton No.3, 15 mL gliserol, 1,5 gram K₂HPO₄, 1,5 gram MgSO₄.7H₂O, 20 gram agar, lalu dimasukkan ke dalam 1000 mL aquades. Panaskan hingga mendidih. Sesuaikan pH hingga mencapai 7,2 sebelum media diautoklaf. Sterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C. dengan tekanan 2 atm. Tuang ke dalam tabung atau cawan, biarkan hingga memadat (Atlas, 2006).

III.3.2.6 Pembuatan Medium Sucrose Peptone Agar

Bahan ditimbang sebanyak 20 gram sukrosa, 5 gram pepton, 15 gram agar, 0,25 gram MgSO₄.7H₂O, 0,5 gram K₂HPO₄ lalu dimasukkan ke dalam 1000 mL aquades. Panaskan hingga mendidih. Sesuaikan pH hingga mencapai 7,2 sebelum media diautoklaf. Sterilisasi ke dalam autoklaf selama 15 menit dengan temperatur 121°C. dengan tekanan 2 atm. Tuang ke dalam tabung atau cawan, biarkan hingga memadat (Fahy dan Persley, 1983).

III.3.2.7 Pembuatan Medium Nitrogen Free Manitol Agar

Bahan ditimbang sebanyak 10 gram manitol, 0,2 gram yeast ekstrak, 0,5 gram K_2HPO_4 , 0,4 gram $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,1 gram NaCl, 5 gram $CaCO_3$, 18 gram agar, lalu dimasukkan ke dalam 1000 mL aquades dan diatur pH-nya menjadi 7, lalu dipanaskan sampai semua bahan larut. Disterilkan dalam otoklaf pada suhu $121^\circ C$ selama 15 menit dengan tekanan 2 atm. Tuang ke dalam tabung atau cawan, biarkan hingga memadat (Astuti, 2006).

III.3.3 Penyiapan Sampel

Sampel daun dari padi aromatik yang telah ditanam yaitu Pare Bau diambil secara aseptik yaitu dengan memotong daunnya 5-10 helai kemudian langsung memasukkannya ke dalam kantong sampel agar tidak terkontaminasi dan memasukkannya ke dalam coolbox untuk menjaga kesegaran dan kontaminasi dengan mikroba lain, kemudian memotong kecil-kecil daun tersebut untuk selanjutnya dilakukan isolasi bakteri filofser.

III.3.4 Isolasi Bakteri Spesifik

Isolasi bakteri filofser dilakukan dengan metode SPC (Standar Plate Count). Sebanyak 5 gram sampel daun yang telah dipotong kecil-kecil dimasukkan ke dalam larutan fisiologis 45 mL kemudian dihomogenkan menggunakan vortex. Dari larutan suspensi tersebut diambil pula sebanyak 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam tabung berisi NB (Nutrient Broth) sebagai media pengaya untuk memudahkan pengamatan pada medium spesifik. Setelah proses isolasi pada medium spesifik, maka dilakukan pemurnian hingga mendapatkan isolat murni.

A. Bakteri *Pseudomonas* sp.

Larutan suspensi sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 mL Nutrient Broth kemudian di vortex dan diinkubasi selama 24 jam. Hasil bakteri yang ditanam pada media pengaya kemudian diujikan dengan mengambil 1 mL kultur kemudian ditumbuhkan pada medium spesifik King's B dengan menggunakan media tuang. Koloni bakteri *Pseudomonas* sp. pada medium King's B berbentuk bulat, tepi rata, fluidal, dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan (Arwiyanto, dkk., 2007).

B. Bakteri *Bacillus* sp.

Hasil bakteri yang ditanam pada media pengaya kemudian diujikan dengan mengambil 1 mL kultur kemudian ditumbuhkan pada medium spesifik Tryptic Soy Agar (TSA) dengan menggunakan media tuang. Koloni bakteri *Bacillus* sp. pada medium TSA memiliki ciri makroskopik warnanya putih, bentuk koloni bundar, tepi koloni licin, elevasinya timbul serta sifat koloninya tebal, berlendir dan sedikit transparan (Maryanto dan Sutrisno, 2011).

C. Bakteri *Xanthomonas* sp.

Hasil bakteri yang ditanam pada media pengaya kemudian diujikan dengan mengambil 1 mL kultur kemudian ditumbuhkan pada medium spesifik Sucrose Peptone Agar (SPA) dengan menggunakan media tuang. Koloni *Xanthomonas* sp. pada medium SPA berwarna kuning, bulat, halus, cembung, dan berlendir (Adi, dkk., 2011).

D. Bakteri *Azotobacter* sp.

Hasil bakteri yang ditanam pada media pengaya kemudian diujikan dengan mengambil 1 mL kultur kemudian ditumbuhkan pada medium spesifik Nitrogen Free Manitol Agar dengan menggunakan media tuang. Koloni *Azotobacter* sp. dalam medium Nitrogen Free Manitol Agar licin, mengkilap, pada awalnya berwarna putih kemudian berkembang menjadi lendir yang berlimpah dan berwarna kecoklatan jika diinkubasi dalam jangka waktu yang lama sekitar 1-2 bulan (Astuti, 2006).

III.3.5 Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri dilakukan dengan pengamatan morfologi dari koloni yang terbentuk pada cawan petri berupa bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, serta permukaan koloni. Selanjutnya dilakukan identifikasi lanjutan yaitu dengan pengecatan gram dan uji pembentukan endospora.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Pengamatan Morfologi Koloni Isolat Bakteri

Bakteri yang tumbuh pada medium cair kemudian diinokulasikan pada medium spesifik untuk mengamati pertumbuhan koloni dengan menggunakan empat medium spesifik yaitu Medium Nitrogen Free Manitol Agar biasa digunakan sebagai media tumbuh untuk mendeteksi keberadaan *Azotobacter* sp.; Medium Tryptic Soya Agar biasa digunakan sebagai media tumbuh untuk mendeteksi keberadaan *Bacillus* sp.; Medium Sucrose Peptone Agar biasa digunakan sebagai media tumbuh untuk mendeteksi keberadaan *Xanthomonas* sp. dan Medium King's B digunakan sebagai media tumbuh untuk mendeteksi keberadaan *Pseudomonas* sp. Selanjutnya dilakukan proses pemurnian hingga diperoleh kultur murni. Hasil pengamatan morfologi koloni (isolat kultur murni) pada beberapa medium spesifik dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri pada Beberapa Medium Spesifik

No	Kode Isolat	Morfologi Koloni				
		Warna	Bentuk	Tepi	Elevasi	Permukaan
1.	A	Putih	<i>Circulair</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap
2.	B	Putih	<i>Circulair</i>	<i>Lobate</i>	<i>Convex</i>	Halus Mengkilap
3.	C	Kuning	<i>Circulair</i>	<i>Entire</i>	<i>Convex</i>	halus mengkilap
4.	D	Putih kekuningan	<i>Circulair</i>	<i>Lobate</i>	<i>Flat</i>	halus mengkilap

Keterangan: A : Isolat pada medium Nitrogen Free Manitol Agar

B : Isolat pada medium Tryptic Soya Agar

C : Isolat pada medium Sucrose Pepton Agar

D : Isolat pada medium King's B

Hasil isolasi dan pemurnian bakteri filosfer didapatkan 4 jenis koloni bakteri. Pada medium Nitrogen Free Manitol Agar ciri koloni bakterinya mempunyai bentuk bulat, berwarna putih, tepi koloni berombak, permukaan halus mengkilap dan cembung. Pada medium Tryptic Soya Agar ciri koloninya mempunyai bentuk bulat, berwarna putih, tepi koloni berombak, permukaan halus mengkilap dan cembung. Pada medium Sucrose Peptone Agar ciri koloninya mempunyai bentuk bulat, berwarna kuning, tepi koloni rata, permukaan halus mengkilap dan cembung. Pada medium King's B ciri koloninya mempunyai bentuk bulat, berwarna putih kekuningan, tepi koloni berombak, permukaan halus mengkilap dan datar.

Menurut Astuti (2006), koloni *Azotobacter* sp. dalam medium Nitrogen Free Manitol Agar licin, mengkilap, pada awalnya berwarna putih kemudian berkembang menjadi lendir yang berlimpah dan berwarna kecoklatan jika diinkubasi dalam jangka waktu yang lama sekitar 1-2 bulan. Adapun koloni bakteri *Bacillus* sp. pada medium Tryptic Soya Agar menurut Maryanto dan Sutrisno (2011), memiliki ciri makroskopik warnanya putih, bentuk koloni bundar, tepi koloni licin, elevasinya timbul serta sifat koloninya tebal, berlendir dan sedikit transparan. Sedangkan menurut Adi, dkk. (2011), koloni *Xanthomonas* sp. pada medium Sucrose Peptone Agar berwarna kuning, bulat, halus, cembung, dan berlendir dan menurut Arwiyanto, dkk. (2007), koloni bakteri *Pseudomonas* sp. pada medium King's B berbentuk bulat, tepi rata, fluidal, dan mengeluarkan pigmen berwarna kuning kehijauan.

IV.2 Hasil Pengamatan Morfologi Sel dan Sifat Gram Isolat Bakteri

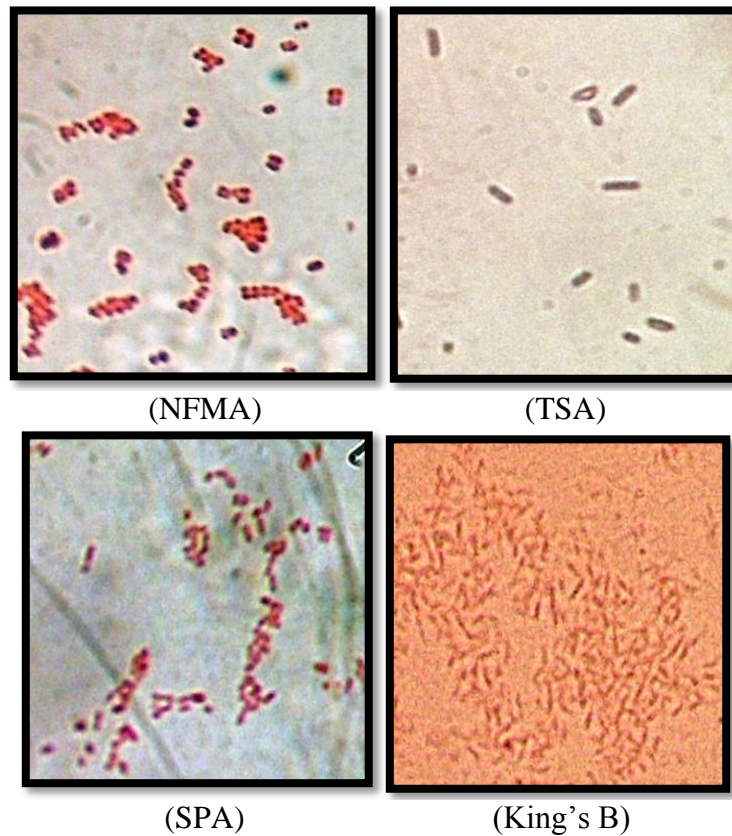
Setelah pengamatan morfologi koloni, maka selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi sel dan sifat gram dari isolat yang diperoleh serta uji untuk mendeteksi keberadaan endospora. Pengamatan morfologi sel dan sifat gram dilakukan melalui proses pengecatan gram sel isolat dan pengamatan ada tidaknya isolat yang menghasilkan endospora dilakukan melalui proses pengecatan endospora dengan menggunakan metode Schaeffer-Fulton. Hasil dari keempat isolat yang diamati, ada satu isolat yang berbentuk kokus yaitu bakteri yang berasal dari medium Nitrogen Free Manitol Agar dan tiga isolat lainnya berbentuk basil (batang) yang tersaji dalam tabel 2 berikut ini:

Tabel 2. Pengamatan Morfologi Sel dan Sifat Gram Bakteri

No	Kode Isolat	Medium Spesifik	Bentuk	Sifat Gram	Endospora	Dugaan Genera
1.	A	Nitrogen Free Manitol Agar	Kokus	Negatif	-	<i>Azotobacter</i>
2.	B	Tryptic Soya Agar	Basil	Positif	+	<i>Bacillus</i>
3.	C	Sucrose Peptone Agar	Basil	Negatif	-	<i>Xanthomonas</i>
4.	D	King's B	Basil	Negatif	-	<i>Pseudomonas</i>

Keterangan: - : tidak menghasilkan endospora

+ : menghasilkan endospora



Gambar 6. Hasil Uji Perwarnaan Gram Bakteri dengan perbesaran 1000x

Hasil uji pewarnaan Gram yang terlihat pada Gambar 6 menunjukkan bahwa tiap kode isolat memiliki perbedaan satu sama lain yang berarti berbeda-beda pula jenis bakterinya. Isolat yang berasal dari medium Nitrogen Free Manitol Agar (NFMA) berwarna merah yang merupakan gram negatif. Isolat yang berasal dari medium Tryptic Soya Agar (TSA) berwarna ungu yang merupakan gram positif. Isolat yang berasal dari medium Sucrose Peptone Agar (SPA) berwarna merah yang merupakan gram negatif. Isolat yang berasal dari medium King's B memiliki berwarna merah yang merupakan gram negatif.

Berdasarkan pertumbuhan bakteri pada medium spesifik, pengamatan morfologi koloni, morfologi sel isolat bakteri dan sifat gram, hasil identifikasi berdasarkan sistem *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition*

menunjukkan kecenderungan isolat A mengarah pada genus *Azotobacter*, isolat B mengarah pada genus *Bacillus*, isolat C mengarah pada genus *Xanthomonas* dan isolat D mengarah pada genus *Pseudomonas*.

Menurut Holt, *et al.* (1994), karakter kunci utama genus *Azotobacter* adalah sel berbentuk kokus dan gram negatif. *Azotobacter* merupakan bakteri berbentuk kokus yang berukuran 1,5-2,0 μm . Tidak membentuk endospora tapi kista. Bergerak dengan flagella, bersifat aerob dan kemoorganotrof, menggunakan gula, alkohol, garam dari bahan organik untuk tumbuh, katalase positif. (Derajat Keasaman) pH optimum pada 7-7,5 dan biasa ditemukan di tanah dan air. Spesies tertentu dapat berasosiasi dengan akar tumbuhan.

Azotobacter adalah spesies bakteri yang telah dikenal sebagai agen biologis pemfiksasi dinitrogen, diazotrof, yang mengkonversi dinitrogen keamonium melalui reduksi elektron dan protonasi gas dinitrogen. Unsur hara yang membatasi produktivitas tanaman adalah nitrogen sehingga pupuk nitrogen selalu ditambahkan sebagai input dalam produksi tanaman. Untuk menghindari penurunan kesehatan tanaman akibat adanya input bahan kimia, diperlukan input biologis berupa bakteri *Azotobacter*. Bakteri ini juga berperan sebagai agen peningkat pertumbuhan tanaman melalui produksi fitohormon yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Selain itu, input bakteri dalam suatu sistem pertanian sejalan dengan konsep Mekanisme Pembangunan Bersih (Clean Development Mechanism, CDM) yang penting diupayakan untuk mengurangi emisi gas rumah kaca dan meningkatkan serapan karbon (carbon sequestration) sehingga karbon berada dalam bentuk yang lebih stabil (Hindersah dan Simarmata, 2004).

Berdasarkan Holt, *et al.* (1994), endospora merupakan karakter kunci utama genus *Bacillus*. Endospora merupakan struktur bakteri yang dapat bertahan pada keadaan yang tidak menguntungkan seperti kekeringan, kekurangan nutrisi, pembekuan, serta bahan-bahan kimia. Karakteristik lain dari *Bacillus* adalah motil, katalase positif, kebutuhan O₂ positif.



A B

Keterangan : A. Sel Vegetatif; B. Endospora

Gambar 7. Hasil Uji Perwarnaan Endospora Bakteri yang tumbuh pada media TSA dengan perbesaran 1000x

Bacillus sp. dapat dijadikan sebagai agen pengendali hayati dan dapat menghasilkan fitohormon yang berpotensi untuk mengembangkan sistem pertanian berkelanjutan. Fitohormon yang dihasilkan bakteri tanah ini dapat memengaruhi pertumbuhan tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara tidak langsung fitohormon dari bakteri menghambat aktivitas patogen pada tanaman, sedangkan pengaruh secara langsung fitohormon tersebut adalah meningkatkan pertumbuhan tanaman dan dapat bertindak sebagai fasilitator dalam penyerapan beberapa unsur hara dari lingkungan (Maspary, 2013).

Bakteri genus *Xanthomonas* merupakan mikroorganisme yang menyerupai *Pseudomonas*, kecil, motil, gram negatif berbentuk batang dengan kedua ujung membulat, berukuran pendek, dengan panjang berkisar antara 0,7-2,0 µm dan

lebar antara 0,4-0,7 μm , memiliki satu flagel, tanpa spora, aerobik dan biasanya parasit pada tanaman. Ciri khas genus *Xanthomonas* adalah koloninya berlendir, dan menghasilkan pigmen berwarna kuning yang merupakan pigmen xanthomonadin dan merupakan bakteri aerob. Bentuk koloni pada medium biakan adalah bulat, cembung dan berdiameter 1-3 mm (Deacon, 2012; Santosa, dkk., 2003).

Umumnya genus *Xanthomonas* merupakan bakteri patogen dan dapat menghasilkan ekstraseluler polisakarida (EPS) yang berperan dalam pembentukan eksudat yang digunakan untuk menginfeksi daun. *Xanthomonas* masuk ke jaringan tanaman melalui hidatoda pada tepi daun, akar yang terputus, ataupun luka pada daun. Sumber inokulum bakteri ini adalah melalui benih, alat-alat pertanian, anakan yang terinfeksi, dan gulma yang menjadi inang (Evan, 2011).

Holt, *et al.* (1994) melaporkan bahwa karakter kunci dari genus *Pseudomonas* adalah sel berbentuk basil dan gram negatif. *Pseudomonas* adalah bakteri gram negatif berbentuk batang, aerob obligat, motil, oksidasi fermentatif negatif. Hampir semua strain motil dengan bentuk flagel monotrik. Bakteri *Pseudomonas* khas di alam ditemukan dalam sebuah biofilm, yang melekat pada beberapa permukaan atau substrat, atau dalam bentuk planktonik, organisme uniseluler, aktif bergerak dengan flagelnya (Todar, 2008).

Beberapa hasil penelitian menyatakan bahwa salah satu spesies dari genus *Pseudomonas* yang biasa ditemukan di area filosfer yaitu *P. fluorescens* dapat menekan pertumbuhan patogen tumbuhan baik jamur maupun bakteri, ada juga yang menghasilkan zat tumbuh atau mengimbas tanaman sehingga tanaman tahan

terhadap patogen tertentu, dapat mengendalikan penyakit layu fusarium pada pisang, penyakit virus kuning pada tanaman cabai, penyakit layu bakteri (*Ralstonia solanacearum*) pada kacang tanah, dan juga aktif dalam dekomposisi aerobik dan biodegradasi, oleh karena itu bakteri ini memainkan peranan penting dalam siklus karbon (Kartika, 2008).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ada 4 genera bakteri yang dapat dijumpai pada daerah filosfer padi Pare Bau yaitu *Azotobacter*, *Bacillus*, *Xanthomonas* dan *Pseudomonas*.

V.2 Saran

Disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi bakteri lainnya yang hidup pada daerah filosfer daun Pare Bau dan pengaruhnya terhadap tanaman.

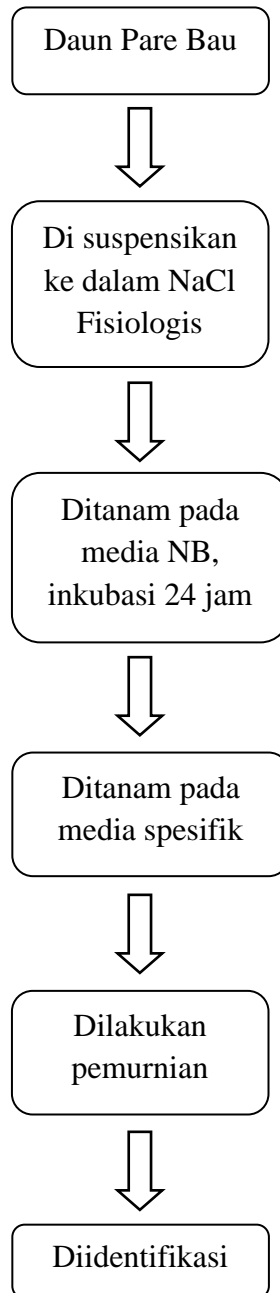
DAFTAR PUSTAKA

- Aak. 2006. **Padi**. in Anonim, Skripsi Penelitian. Universitas Sumatera Utara. <http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=penyimpanan+benih+padi+&source> . Diakses tanggal 06 Mei 2012.
- Adi, H.D., B. Prakoso dan N. Prihatiningsih, 2011. **Penentuan Patotipe dan Keragaman Genetik *Xanthomonas oryzae pv oryzae* pada Tanaman Padi di Wilayah Karesidenan Banyumas**, Fakultas Pertanian Universitas Jenderal Soedirman, Purwokerto. Vol. 11 No.1: 35-46.
- Arwiyanto, T., YMS Maryudani dan NN. Azizah, 2007. **Sifat-sifat Fenotipik *Pseudomonas fluorescens*, Agensia Pengendali Hayati Penyakit Lincat pada Tembakau Temanggung**, Fakultas Pertanian Gadjahmada, Yogyakarta. Vol 8 No.2 Hal:147-151.
- Astuti, D., 2006. **Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pengikat Nitrogen Non-Simbiotik pada Daerah Rhizosfer Tanaman Murbei (*Morus alba* L.)**, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Atlas, R. M., 2006. **Handbook of Microbiological Media for the Examination Food Second Edition**, Taylor & Francis Group, Boca Raton.
- Cappucino, J. G., dan N. Sherman, 2001. **Microbiology a Laboratory Manual**, Benjamin Cummings, San Fransisco.
- Damardjati, D.S. 1981. **Struktur dan Komposisi Beras**.Tesis. Program Studi Ilmu Pangan. Fakultas Pasca Sarjana. IPB. Bogor.
- Deacon, J., 2012. ***Xanthomonas campestris***, <http://www.biology.ed.ac.uk/archive/jdeacon/microbes/xanthan.htm>, diakses pada 06 Mei 2012.
- Diah, F. P., M. Shovitri, dan N. Dwianita, 2012. **Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Aerob Proteolitik dari Tangki Septik**. *Dalam* Jurnal Sains dan Seni ITS, ISSN: 2301-928X E. Vol. 1, No. 1, 2012
- Eliza, A. Munif, I. Djatnika, dan Widodo, 2007. **Karakter Fisiologis dan Peranan Antibiosis Bakteri Perakaran Graminae Terhadap *Fusarium* dan Pemacu pertumbuhan Tanaman Pisang**. *J. Hort* 17 (2): 150-160.
- Evan, 2011. ***Xanthomonas***, <http://z47d.wordpress.com/2011/10/24/xanthomonas/>, diakses pada 14 Februari 2013

- Fahy, E. M. dan G. J. Persley, 1983. **Plant Bacterial Disease a Diagnostic Guide**. Academic Press. Australia: 303.
- Fradzan, R., 2012. **Filosfer**, <http://www.scribd.com/fradzan/d/31152971-Filosfer>, diakses pada 05 Mei 2012.
- Grist, DH., 1975. **Rice 5th Edition**, Longmans, London.
- Hatmanti, A., 2000. **Pengenalan *Bacillus* spp.** *Dalam Jurnal Oseana*. ISSN 0216-1877. Vol. XXV (1): 31-41, 2000.
- Hindersah R. dan Simarmata T., 2004. **Potensi Rizobakteri *Azotobacter* dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah.** *Dalam Jurnal Natur Indonesia*. ISSN 1410-9379. Vol. 5 (2): 127-133, 2004.
- Holt, J.G., N.R. Krieg, P. Sneath, J.T. Staley dan S.T. Williams, 1994. **Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 9th Edition**, Williams and Wilkins Pub, USA.
- Kartika, A., 2008. **Teknik Eksplorasi dan Pengembangan Bakteri *Pseudomonas fluorescens***, www.laboratoriumphpbanyumas.com, diakses pada 02 Maret 2012.
- Laboratorium Mikrobiologi, 2008. **Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Dasar**, Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, Purwokerto.
- Lembang, J., 2012. **Beras Lokal Toraja Berpotensi Tembus Pasar Dunia**, <http://okezone.com>, diakses pada 12 Juli 2012.
- Mangesa, E., 2012. **Tiga Varietas Padi Toraja jadi Unggulan Pangan Nasional**, <http://luwuraya.com>, diakses pada 12 Juli 2012.
- Manggasa, S., 2010. **Perempuan dalam Pertanian Padi Sawah di Tana Toraja**, <http://Perempuan-dalam-Pertanian-Padi-Sawah-di-Tana-Toraja.html>, diakses pada 02 Maret 2012.
- Maryanto, I. dan H. Sutrisno, 2011. **Ekologi Ternate**, LIPI Press, Jakarta.
- Maspary, 2013. **Beberapa Fakta *Bacillus* sp. dalam Pertanian**, <http://www.sehatcommunity.com/2013/01/beberapa-fakta-bacillus-sp.-dalam-pertanian.html>, diakses pada 16 April 2013.
- Microbiology Laboratories, 2012. ***Azotobacter***, <http://inst.bact.wisc.edu/inst/index>, diakses pada 06 Mei 2012.

- Nurhayati, H., 2006. **Isolasi dan Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen Non Simbiotik dari Lahan Kering Masam**, Universitas Negeri Malang.
- Pitojo, 2003. **Padi**. in Anonim, Skripsi Penelitian. Universitas Sumatera Utara. <http://www.google.co.id/url?sa=t&rct=j&q=penyimpanan+benih+padi+&source>. Diakses tanggal 06 Mei 2012.
- Santosa, D. A., N. Handayani dan A. Iswandi, 2003. **Isolasi dan Seleksi Bakteri Filosfer Pemicu Tumbuh dari Daun Padi (*Oryza sativa* L.) Varietas Ir-64**. Dalam Jurnal Tanah Lingkungan. ISSN 1410-7333. Vol. 5 No.1: 7-12, April 2003.
- Sinaga, L., 2010. **Lampiran Cara Kerja Pembuatan Larutan NaCl Fisiologis 0,97% dan Suspensi McFarland 0,5**, <http://repository.usu.ac.id/bitstream.pdf>, diakses pada 08 Mei 2012.
- Siroyudin, 2011. **Karakteristik Fisik Beras Dari Padi Lokal Sebagai Sumber Plasma Nutfah Asal Jambi**, <http://lubuklandai.blogspot.com>, diakses pada 03 Maret 2012.
- Sumarsih, S., 2003, **Mikrobiologi Dasar**, Fakultas Pertanian UPN Veteran, Yogyakarta.
- Tjitrosoepomo, G., 2007. **Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)**, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Todar, K., 2008. ***Pseudomonas aeruginosa***, <http://textbookofbacteriology.net/pseudomonas.html>, diakses pada 06 Mei 2012.
- Tresna, R. N. M., 2009. **Upacara Kematian di Tana Toraja: Rambu Solo**, <http://usu.repository.Upacara-Kematian-di-Tana-Toraja:-Rambu-Solo.html>, diakses pada 04 Maret 2012.
- Werner, D., 1992. **Symbiosis of Plant and Microbes**. Chapman Hall, London.
- Wikipedia, 2012, **Padi**, <http://id.wikipedia.org/wiki/Berkas:Padi.jpg>, diakses 05 Mei 2012.
- Winarno, F.G., 1984. **Padi dan Beras**, *Diktat Tidak Dipublikasikan, Riset Pengembangan Teknologi Pangan*, IPB, Bogor.

Lampiran 1. Skema Kerja Isolasi Bakteri Filosfer



Lampiran 2. Pertumbuhan Isolat Bakteri Pada Media Spesifik

