

## Eksplorasi dan Identifikasi *Bacillus* sp. dari Tanah Rizosfer Bambu dan Tomat di Kelurahan Made, Sambikerep, Surabaya

*Exploration and Identification of Bacillus sp. from Bamboo and Tomato Rhizosphere Soil in Made Village, Sambikerep, Surabaya*

**Fatimah Lailatus Sa'adah<sup>1\*</sup>, Noni Rahmadhini<sup>1</sup>, dan Suharto<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, UPN "Veteran" Jawa Timur

<sup>2</sup>UPT Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Jawa Timur

\*email korespondensi: fatimahsaadah22@gmail.com

### Info Artikel

Diajukan: 1 Mei 2023

Diterima: 2 Mei 2023

Diterbitkan: 25 Mei 2023

### Abstract

*Bacillus* sp. is one of the Biological Control Agents (BCA) that has effectiveness in inhibiting pathogenic bacterial and fungal pathogens. The purpose of this study was to determine the presence of *Bacillus* sp. on bamboo and tomato root soil. The research stage started from the exploration stage which was carried out on agricultural land in Made Village, Sambikerep District, Surabaya City. Soil sampling was taken compositely at 5 different points. From the isolation results, 6 bacterial colonies were found which were suspected to *Bacillus* sp. The six isolates were BS 1, BS 2, BS 3, BS 4, BS 5, and BS 6. Of the six colonies, only BS 3 colonies could not grow. The results of the isolation were then identified by colony morphology, physiological and biochemical characteristics. The results of the gram test showed that BS 2, BS 4, and BS 6 were gram-positive. The results of the soft rot test showed that BS 6 showed a positive reaction. So that it is suspected as *Bacillus* sp. are BS 2 and BS 4.

### Keyword:

*Bacillus* sp; Exploration; Identification; Isolation.

### Abstrak

*Bacillus* sp. merupakan salah satu Agens Pengendali Hayati yang memiliki efektivitas untuk menghambat bakteri maupun cendawan patogen. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui keberadaan *Bacillus* sp. pada tanah perakaran bambu dan tomat. Tahapan penelitian dimulai dari tahap eksplorasi yang dilaksanakan pada lahan pertanian di Kelurahan Made, Kecamatan Sambikerep, Kota Surabaya. Pengambilan sampel tanah diambil secara komposit pada 5 titik yang berbeda. Dari hasil isolasi, ditemukan 6 koloni bakteri yang diduga sebagai *Bacillus* sp. Keenam isolat tersebut yaitu BS 1, BS 2, BS 3, BS 4, BS 5, dan BS 6. Hasil isolasi selanjutnya diidentifikasi secara morfologi koloni, karakteristik fisiologi dan biokimia. Hasil uji gram menunjukkan bahwa BS 2, BS 4, dan BS 6 merupakan gram positif. Hasil uji *soft rot* menunjukkan bahwa BS 6 menunjukkan reaksi positif. Sehingga yang diduga sebagai *Bacillus* sp. adalah BS 2 dan BS 4.

### Kata Kunci:

*Bacillus* sp; Eksplorasi; Identifikasi; Isolasi.

## PENDAHULUAN

Pengendalian hayati sebagai komponen kunci dari pengendalian hama terpadu pada dasarnya terdiri dari pengendalian populasi OPT dengan menggunakan dan memanfaatkan musuh alami (Parasitoid, Predator, dan Patogen Antagonis). Agens Pengendali Hayati (APH) adalah setiap organisme berupa cendawan, bakteri, virus, nematoda, serangga, dan hewan lain yang dapat digunakan untuk mengendalikan hama dan penyakit tanaman. Meskipun APH ini sudah tersedia di alam, keberadaannya tidak seimbang dan populasinya perlu ditingkatkan di lapangan.

APH sangat berperan penting dalam proses menuju kondisi agro-ekosistem yang stabil. Peranan tersebut ditunjukkan oleh kemampuan APH dalam menekan kepadatan populasi hama sasaran, dan meregulasi populasi hama tetap berada di bawah ambang ekonomi (Sopialena, 2018). Sehingga pengendalian hayati termasuk ke dalam komponen utama dari Pengendalian Hama dan Penyakit Terpadu (PHPT). APH yang sering digunakan untuk mengendalikan penyakit tanaman adalah patogen antagonis, salah satunya berasal dari genus *Bacillus*.

Bakteri dari genus *Bacillus* hidup di tanah perakaran tanaman atau rizosfer. *Bacillus* dapat mengeluarkan senyawa antimikroba yang terdiri dari basitrasin, basilin, basilomisin, difisidin, oksidifisidin, lesitinase, subtilisin. Selain itu, juga menghasilkan senyawa *fengymycin* yang diketahui sebagai antifungal, dan banyak senyawa peptid antibiotik lainnya yang diproduksi oleh *Bacillus* sp. (Abidin, *et al.*, 2015). Efektivitas *Bacillus* sp. dalam menghambat bakteri maupun cendawan patogen telah dibuktikan oleh beberapa peneliti. Selain itu, penggunaan *Bacillus* sp. juga ramah lingkungan karena tidak meninggalkan residu dan tidak menimbulkan efek negatif bagi lingkungan.

## METODE PENELITIAN

Pelaksanaan kegiatan penelitian ini bertempat di Laboratorium Agens Hayati UPT Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura dan dimulai pada tanggal 03 Januari 2022 - 03 Februari 2022. Pengumpulan data menggunakan metode observasi. Metode observasi yang dilakukan dengan pengamatan langsung dan dokumentasi terhadap objek yang akan diteliti. Observasi yang dilakukan terdiri dari serangkaian kegiatan eksplorasi, yaitu pengambilan sampel tanah rizosfer tanaman bambu dan tomat, isolasi bakteri rizosfer dari sampel tanah, dan identifikasi bakteri yang ditemukan melalui berbagai uji.

Eksplorasi di lapang bertujuan untuk mencari bakteri antagonis. Eksplorasi dilakukan di daerah Kelurahan Made Kecamatan Sambikerep Kota Surabaya. Sampel tanah diambil dari perakaran tanaman sehat diantara tanaman yang sakit. Hal ini karena tanah tersebut diduga terdapat mikroba antagonis. Sampel tanah diambil secara komposit di 5 titik yang berbeda. Eksplorasi untuk mencari sampel tanah diambil di sekitar perakaran bambu dan tomat. Tanaman tomat berada di lahan milik Pak Kartono dari Kelompok Tani Sumber Rejeki. Sedangkan untuk tanah perakaran bambu diambil dari lahan Pak Karnoto Kelompok Tani Sendang Biru. Hasil sampel tanah ini selanjutnya akan diisolasi untuk mencari mikroba yang berpotensi sebagai Agens Pengendali Hayati (APH).

Isolasi bakteri bertujuan menyeleksi bakteri dari tanah rizosfer yang berpotensi sebagai APH. Sampel tanah rizosfer yang didapat dari eksplorasi akan diencerkan menggunakan teknik pengenceran bertingkat. Sebanyak 10 g sampel tanah dihomogenisasi dengan 90 ml air steril, kemudian dikocok. Suspensi tanah ini adalah pengenceran  $10^{-1}$ . Sebanyak 1 ml suspensi sampel tanah dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml air steril untuk mendapatkan tingkat

pengenceran  $10^{-2}$ , begitu seterusnya hingga pengenceran  $10^{-4}$ . Isolasi bakteri pada sampel tanah rizosfer atau tanah perakaran dilakukan dengan cara mengambil hasil pengenceran bertingkat sebanyak 1 ml kemudian dikultur ke dalam cawan petri yang telah berisi media NA dengan cara spread plate. Hasil kultur tersebut akan diinkubasi selama 18 jam pada suhu ruang.

Uji gram bakteri (KOH 3%) untuk menentukan gram suatu bakteri. Isolat bakteri yang akan diuji diletakkan pada gelas objek yang telah ditetesi KOH 3%. Kemudian suspensi bakteri ditarik-tarik menggunakan jarum ose secara cepat dan berkali-kali. Pada bakteri gram negatif akan tampak lendir pada saat diangkat, sedangkan pada bakteri positif akan tetap encer atau tidak menunjukkan reaksi (Luthfiyyah, 2016).

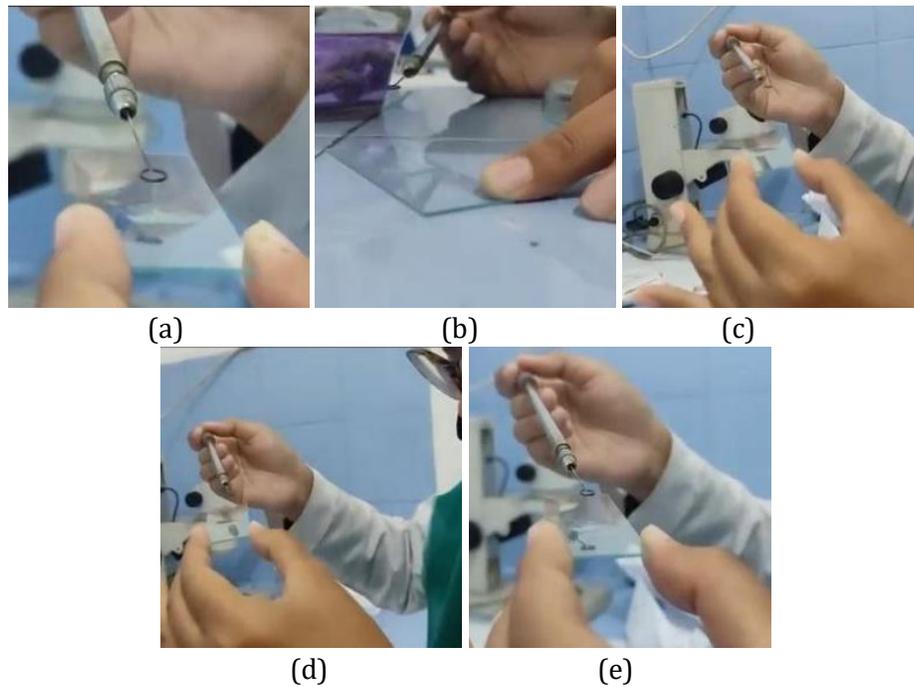
Uji *soft rot* merupakan uji untuk mengetahui sifat bakteri parasit atau saprofit dan dilakukan dengan menggunakan kentang. Mikroba antagonis biasanya bersifat saprofit obligat sehingga hanya dapat hidup pada jaringan mati. Apabila terjadi pembusukan pada kentang setelah diberi isolat bakteri, maka diduga bakteri tersebut bersifat parasit.

Uji hipersensitif merupakan pengujian yang dilakukan untuk mengetahui isolat bakteri yang diuji merupakan bakteri patogen ataupun bukan. Uji ini hanya dilakukan pada isolat BS 2 dan BS 4. Pengujian dilakukan dengan cara menginokulasikan suspensi bakteri pada jaringan tanaman tembakau. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan layu atau bahkan matinya jaringan tanaman tembakau pada bagian yang diinokulasi bakteri (Luthfiyyah, 2016).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

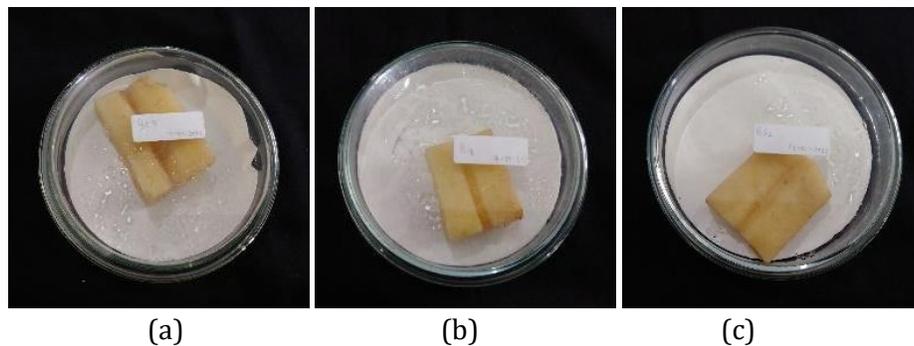
Hasil isolasi pada media NA dijumpai berbagai koloni bakteri yang diduga sebagai *Bacillus* sp. Menurut Hatmanti (2000) Bakteri *Bacillus* spp. memiliki tepi koloni bermacam-macam rata dan tidak rata, permukaannya kasar dan tidak berlendir, bahkan ada cenderung kering dan berbubuk, koloni besar dan tidak mengkilat. Berdasarkan literatur tersebut ditemukan enam koloni yang mirip dengan morfologi koloni bakteri *Bacillus*. Koloni tersebut selanjutnya dikembangkan sebagai satu isolat. Keenam isolat bakteri yaitu BS 1, BS 2, BS 3, BS 4, BS 5, dan BS 6. Masing-masing isolat selanjutnya diperbanyak di media NA sebelum diidentifikasi dengan berbagai uji. Dari keenam koloni, hanya koloni BS 3 yang tidak dapat berkembang. Sehingga untuk uji selanjutnya, isolat yang digunakan adalah BS 1, BS 2, BS 4, BS 5, dan BS 6

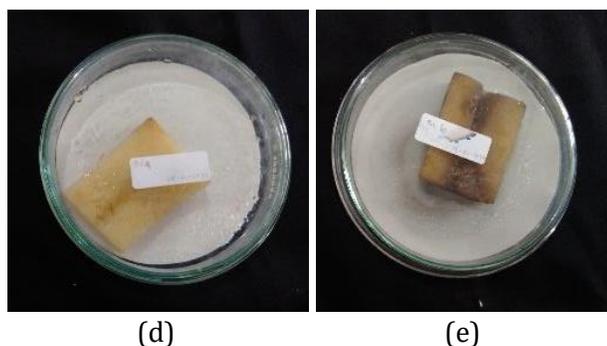
Uji gram bakteri bertujuan untuk mengetahui gram suatu bakteri. Berdasarkan dinding sel bakteri dapat dibagi menjadi dua golongan yaitu, bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Uji gram bakteri dilakukan dengan menggunakan KOH 3%. Uji ini diulang sebanyak 2 kali. Hasil uji gram bakteri pada BS 1 dan BS 5 menunjukkan reaksi positif yang ditunjukkan dari adanya lendir yang terbentuk setelah isolat bakteri direaksikan dengan KOH 3%. Maka BS 1 dan BS 5 merupakan bakteri gram negatif. Sedangkan pada BS 2, BS 4, dan BS 6 menunjukkan reaksi negatif karena tidak terdapat lendir saat direaksikan. Maka BS 2, BS 4, dan BS 6 merupakan bakteri gram positif. Menurut Soesanto (2008) *Bacillus* sp. merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang, bersel satu. Sehingga yang sesuai dengan ciri-ciri *Bacillus* sp. adalah isolat BS 2, BS 4, dan BS 6.



**Gambar 1.** Hasil Uji Gram, (a) Uji gram BS 1, (b) Uji gram BS 2, (c) Uji gram BS 4, (d) Uji gram BS 5, (e) Uji gram BS 6

Uji *soft rot* bertujuan untuk mengetahui sifat patogenik dari suatu isolat bakteri. Uji ini dilakukan pada media kentang dilakukan untuk mengetahui sifat parasit dari bakteri. Pada isolat BS 1, BS 2, BS 4, dan BS 5 tidak terdapat adanya nekrosis pada kentang. Sedangkan pada isolat BS 6 terdapat nekrosis pada kentang. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BS 1, BS 2, BS 4, dan BS 5 memiliki saprofit karena isolat tersebut tidak dapat berkembang di jaringan hidup. Sedangkan isolat BS 6 diduga sebagai parasit karena menyebabkan nekrosis pada kentang. Bakteri yang bersifat *soft rot* ditandai dengan membusuknya bagian tengah kentang yang digoreskan bakteri. Bakteri yang bersifat *soft rot* merupakan kelompok bakteri yang menyebabkan busuk lunak pada tanaman dan bersifat patogenik (Oviana *et al.*, 2015).





**Gambar 2.** Hasil Uji *Soft rot*, (a) Uji *soft rot* BS 1, (b) Uji *soft rot* BS 2, (c) Uji *soft rot* BS 4, (d) Uji *soft rot* BS 5, (e) Uji *soft rot* BS 6

Uji hipersensitif bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri yang ditemukan merupakan bakteri patogen tanaman atau bukan. Uji hipersensitif dilakukan dengan menginfiltrasi suspensi bakteri ke daun tanaman tembakau. Gejala hipersensitif terlihat jika pada bagian yang diinfiltrasi suspensi bakteri terjadi nekrosis. Isolat BS 2 dan BS 4 yang diuji pada tanaman tembakau tidak menunjukkan gejala nekrosis. Maka dapat diduga isolat BS 2 dan BS 4 tidak berperan sebagai patogen dan berpotensi sebagai Agens Pengendali Hayati (APH). Hal ini sesuai dengan pendapat Marsaoli *et al.* (2020) bahwa reaksi negatif pada uji hipersensitif menunjukkan bahwa suatu bakteri tidak berpotensi sebagai patogen tanaman. Hal ini dapat dilihat ada tidaknya reaksi nekrosis pada daun tanaman tembakau yang telah disuntik suspensi bakteri BS 2 dan BS 4.



**Gambar 3.** Hasil Uji Hipersensitif

**Tabel 1.** Hasil Karakteristik Fisiologis dan Biokimia Isolat Bakteri Antagonis

No.	Kode Isolat	Hasil Uji		
		Uji Gram (KOH 3%)	Uji <i>Soft rot</i>	Uji Hipersensitif
1.	BS 1	+	-	
2.	BS 2	-	-	-
3.	BS 4	-	-	-
4.	BS 5	+	-	
5.	BS 6	-	+	

## KESIMPULAN

Berdasarkan kegiatan penelitian yang telah dilakukan, ditemukan bahwa dari kelima isolat yang diduga sebagai *Bacillus* sp. adalah isolat BS 2 dan BS 4. Berdasarkan karakteristik fisiologis dan biokimia, *Bacillus* sp merupakan bakteri gram positif, bersifat saprofit dan tidak berpotensi sebagai patogen. Perlunya beberapa uji yang harus dilakukan agar dapat mengetahui genus dan spesies isolat secara tepat. Pada setiap proses pengerjaan kesterilan harus sangat dijaga agar mencegah kontaminasi dan memudahkan proses identifikasi.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu selama penelitian dan penulisan artikel sehingga penelitian berjalan dengan lancar.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z, L Aini, A Abadi. (2015). Pengaruh Bakteri *Bacillus* sp, dan *Pseudomonas* sp. Terhadap Pertumbuhan Jamur Patogen *Sclerotium rolfsii* Sacc. Penyebab Penyakit Rebah Semai Pada Tanaman Kedelai. *Jurnal Hama dan Penyakit Tumbuhan*, 3(1):2338- 4336.
- Hatmanti, A. (2000). Pengenalan *Bacillus* spp. *Oseana*, 25(1), 31-41.
- Luthfiyyah K. (2016). Eksplorasi Bakteri Antagonis di Tanah Kawasan Organik Kebun Percobaan Cangar Sebagai Pengendali Bakteri Patogen *Xanthomonas oryzae* Pv. *oryzae*. *Skripsi*. Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya. Malang.
- Marsaoli, F., Matinahoru, J. M., & Leiwakabessy, C. (2020). Isolasi, Seleksi, dan Uji Antagonis Bakteri Endofit diisolasi dari Salawaku (*Falcataria mollucana*) dalam Menekan Pertumbuhan Cendawan Patogen *Cercospora* spp. *Agrologia*, 8(2), 44-54.
- Oviana, T., Aeny, T. N., & Prasetyo, J. (2015). Isolasi dan Karakterisasi Penyebab Penyakit Busuk Buah pada Tanaman Nanas (*Ananas comosus* L. merr.). *Jurnal Agrotek Tropika*, 3(2), 220-225.
- Soesanto, L. (2008). *Pengantar Pengendalian Hayati Penyakit Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Sopialena. (2018). *Pengendalian Hayati dengan Memberdayakan Potensi Mikroba*. Samarinda: Mulawarman Universty Press.