

## BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Identifikasi bakteri toleran salin

Hasil identifikasi bakteri dilakukan dengan berpedoman pada buku Bergey's Determinative Bacteriology (Holt *et al.*, 1994) dan Schaad *et al.* (2001). Uji identifikasi dilakukan untuk membedakan bakteri pada tingkat genus.

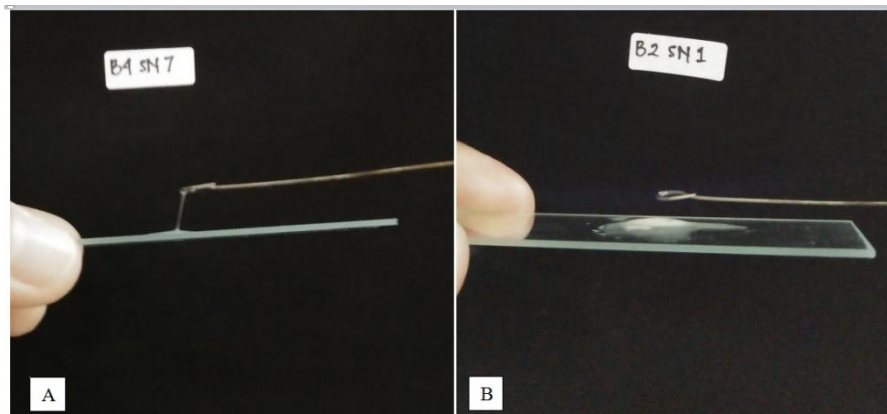
Tabel 3. Hasil Uji Identifikasi Bakteri Toleran Salin

Kode Isolat	KOH	Gram	Pewarnaan Spora	Bentuk Sel	Pertumbuhan anaerob	Katalase	Pertumbuhan pada media YDC
SN1	TB	+	-	Batang	TD	+	TD
SN2	TB	+	-	Batang	TD	+	TD
SN6	TB	+	+	Batang	-	+	TD
SN7	B	-	TD	Batang	+	+	Putih
SN13	TB	+	-	Bulat	TD	+	TD
SN15	TB	+	-	Batang	TD	+	TD
SN22	TB	+	+	Batang	-	+	TD
SN23	TB	+	-	Batang	TD	+	TD
SN26	TB	+	+	Batang	-	+	TD

Keterangan: (TB) tidak berlendir, (B) berlendir, (+) bakteri bereaksi positif, (-) bakteri bereaksi negatif, (TD) tidak diuji

#### a. Uji reaksi KOH

Hasil uji KOH menunjukkan dari sembilan isolat bakteri toleran salin, delapan bakteri merupakan Gram positif yang ditandai dengan suspensi yang encer (tidak berlendir) setelah ditetesi KOH 3% dan satu Gram negatif ditandai dengan terbentuknya lendir pada suspensi. Delapan bakteri toleran salin yang merupakan Gram positif antara lain isolat SN1, SN2, SN6, SN13, SN15, SN22, SN23, dan SN26, sedangkan bakteri Gram negatif yaitu isolat SN7 seperti yang tertera pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil uji KOH pada: A) Isolat SN7 yang menunjukkan Gram negatif; dan B) Isolat SN1 yang menunjukkan Gram positif

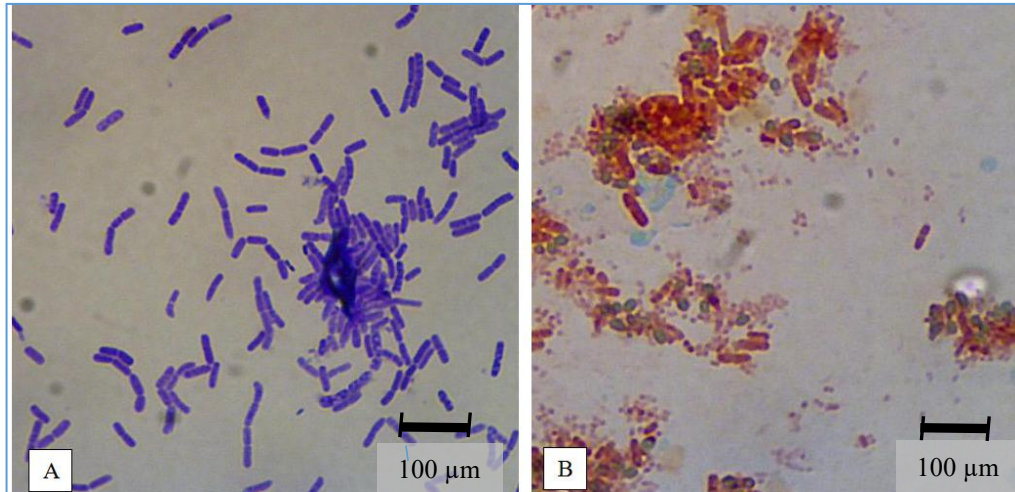
## **b. Uji Gram**

Pewarnaan Gram merupakan salah satu tahap penting yang sangat berguna dan paling banyak digunakan dalam laboratorium, untuk membedakan apakah bakteri tersebut termasuk dalam Gram positif atau negatif.

Berdasarkan hasil uji Gram dan diamati dibawah mikroskop, sebanyak delapan dari sembilan bakteri toleran salin merupakan bakteri Gram positif dan satu Gram negatif. Hal tersebut ditandai dengan bakteri Gram positif berwarna ungu, dan bakteri Gram negatif berwarna merah setelah ditetesi dengan larutan safranin (Schaad, 2001). Hasil uji Gram pada sembilan isolat menunjukkan bahwa SN1, SN2, SN6, SN13, SN15, SN22, SN23, dan SN26 merupakan bakteri Gram positif, sedangkan bakteri Gram negatif yaitu isolat SN7 seperti yang tertera pada Gambar 6.

Bakteri Gram positif dapat berwarna ungu karena warna kristal violet-yodium tetap dipertahankan meskipun telah diberi larutan pemucat (alkohol), sedangkan bakteri Gram negatif berwarna merah karena zat warna tersebut larut pada saat pemberian alkohol dan pada akhirnya berubah menjadi warna merah setelah pemberian safranin. Perbedaan hasil dalam pewarnaan ini disebabkan perbedaan struktur kedua kelompok bakteri tersebut (Hidayat dan Alhadi, 2012).

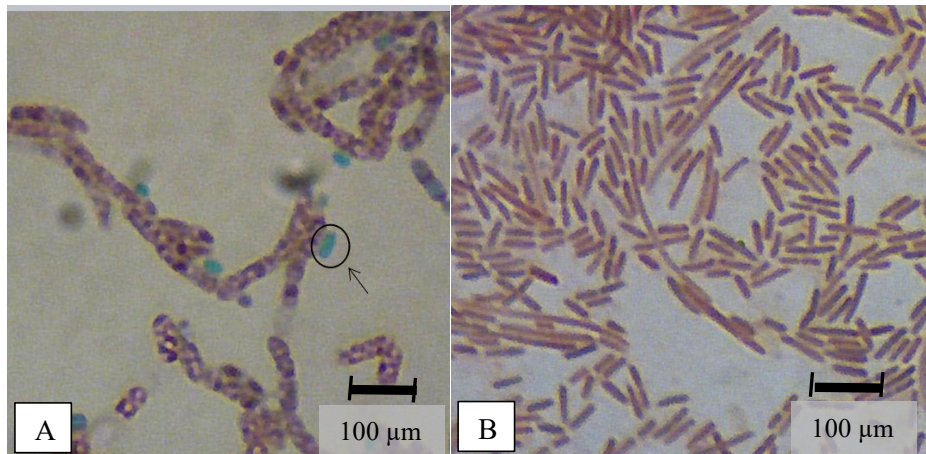
Adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri Gram positif dan Gram negatif menyebabkan perbedaan reaksi dalam penyerapan zat warna. Sebagian besar dinding sel bakteri Gram positif terdiri dari peptidoglikan, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai kandungan lipida yang tinggi dibandingkan dinding sel bakteri Gram positif. Lipida dapat larut dalam alkohol sehingga pori-pori dinding sel membesar dan meningkatkan daya larut zat warna ungu pada dinding sel bakteri Gram negatif ketika pemberian kristal violet. Penambahan safranin pada tahap akhir inilah yang menyebabkan sel bakteri Gram negatif dapat berwarna merah, karena zat warna kristal violet-yodium terlarut oleh pemberian alkohol kemudian dinding sel mengikat zat warna kedua. Pada bakteri Gram negatif, penambahan safranin tidak menyebabkan perubahan warna karena zat warna ungu dari kristal violet-yodium tetap terikat pada dinding sel (Hidayat dan Alhadi, 2012).



Gambar 6. Hasil uji Gram pada: A) Isolat SN1 yang menunjukkan Gram positif; dan B) Isolat SN7 yang menunjukkan Gram negatif

#### c. Uji pewarnaan spora

Setelah pada uji Gram sebanyak delapan isolat bakteri toleran salin didapatkan reaksi positif, sesuai pedoman Schaad (2001) dilanjutkan dengan uji pewarnaan spora. Tujuan pewarnaan spora tersebut adalah untuk mengetahui apakah bakteri Gram positif membentuk spora atau tidak. Dari hasil uji pewarnaan spora, bakteri toleran salin yang menunjukkan reaksi positif adalah SN6, SN22, dan SN26, sedangkan reaksi negatif ditunjukkan pada isolat SN1, SN2, SN13, SN15, dan SN23 seperti yang tertera pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil uji pewarnaan spora pada: A) Isolat SN6 yang menunjukkan reaksi positif; dan B) Isolat SN1 yang menunjukkan reaksi negatif

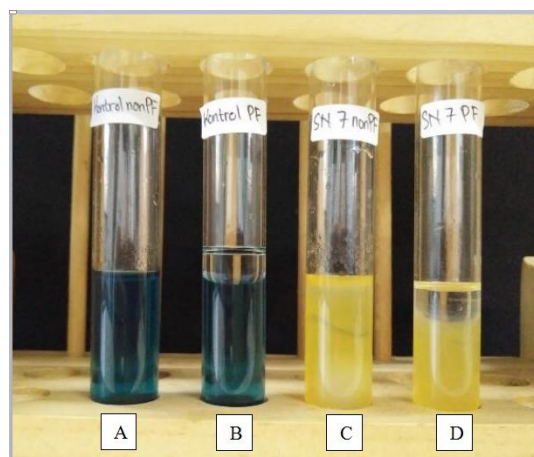
#### d. Bentuk Sel

Berdasarkan hasil pengamatan secara mikroskopis, dari sembilan isolat yang diamati terdapat delapan bakteri toleran salin yang berbentuk batang, yaitu

SN1, SN2, SN6, SN7, SN15, SN22, SN23, dan SN26. Sedangkan isolat SN13 memiliki bentuk bulat. Setelah melalui tahap uji pengecatan spora, bakteri yang tidak membentuk spora (SN1, SN2, SN13, SN15, dan SN23) dapat langsung diklasifikasikan ke tingkat genus *Corynebacterium* atau *Streptomyces* berdasarkan bentuk selnya. Menurut Hefdiyah dan Maya (2014), *Corynebacterium* adalah bakteri Gram positif berbentuk basil, tidak membentuk endospora tidak tahan asam, dan menghasilkan enzim katalase. *Streptomyces* adalah bakteri gram positif berbentuk dasar bulat, menyerupai jamur berfilamen, aerob, dan menghasilkan enzim katalase (Smaoi *et al.*, 2011 dan Ikeda *et al.*, 2003). Diameter filamen bakteri *Streptomyces* berukuran sangat kecil yaitu kurang dari 1  $\mu\text{m}$  (Willemsse *et al.*, 2011). Hal ini dapat disimpulkan bahwa SN13 diklasifikasikan kedalam genus *Streptomyces sp.*, dan SN1, SN2, SN15, dan SN23 merupakan genus *Corynebacterium*.

#### e. Uji anaerob

Identifikasi dilanjutkan dengan uji anaerob oksidatif fermentatif pada bakteri Gram positif yang membentuk spora. Isolat bakteri toleran salin yang diuji anaerob adalah SN6, SN22, dan SN26. Selain itu, identifikasi juga dilanjutkan dengan uji anaerob yang dilakukan pada bakteri Gram negatif setelah diuji KOH maupun uji Gram. Bakteri Gram negatif yang diuji anaerob adalah SN7.

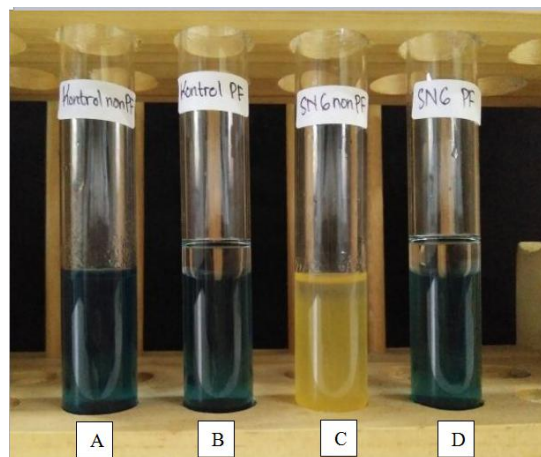


Gambar 8. Pertumbuhan anaerob pada isolat SN7 yang bereaksi positif. A) Kontrol tanpa parafin; B) Kontrol dengan parafin; C) Isolat SN7 tanpa parafin; D) Isolat SN7 dengan parafin

Hasil uji anaerob seperti Gambar 8 diatas menunjukkan reaksi positif, yaitu pada isolat bakteri SN7. Hal ini dibuktikan dengan kemampuan SN7 untuk tumbuh pada media yang dilapisi oleh minyak parafin (tanpa oksigen), yang berarti mampu hidup dalam kondisi lingkungan anaerob (bakteri anaerob). Reaksi

positif ditunjukkan oleh terbentuknya koloni berwarna kuning pada media OF yang dilapisi oleh larutan parafin.

Hasil uji anaerob yang menunjukkan reaksi negatif terdapat pada isolat SN6, SN22, dan SN26. Ketiga isolat bakteri tersebut tidak mampu tumbuh pada media OF yang dilapisi oleh parafin, sehingga warna media tidak berubah. Isolat bakteri SN6, SN22, dan SN26, merupakan bakteri aerob. Sesuai dengan pedoman Schaad (2001), ketiga isolat bakteri toleran salin tersebut dapat diklasifikasikan kedalam genus *Bacillus sp.* Hasil uji anaerob yang menunjukkan reaksi negatif dapat dilihat pada Gambar 9.



Gambar 9. Pertumbuhan anaerob pada isolat SN6 yang bereaksi negatif. A) Kontrol tanpa parafin; B) Kontrol dengan parafin; C) Isolat SN7 tanpa parafin; D) Isolat SN7 dengan parafin

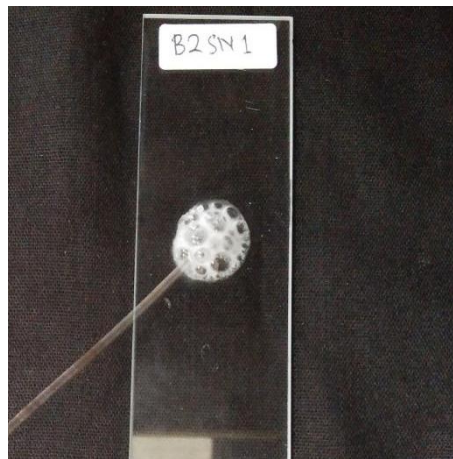
#### f. Uji katalase

Uji katalase dilakukan untuk mengetahui ada atau tidaknya enzim katalase pada bakteri yang diuji. Berdasarkan hasil penelitian sembilan isolat bakteri toleran salin menunjukkan reaksi positif setelah ditetesi larutan  $H_2O_2$  3%. Hasil reaksi positif uji katalase dapat dilihat pada Gambar 10. Reaksi positif ditandai dengan munculnya gelembung-gelembung gas pada suspensi. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua bakteri yang diuji mengandung enzim katalase. Katalase merupakan salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hidrogen peroksida menjadi oksigen dan air.

Kebanyakan bakteri memproduksi enzim katalase untuk pertumbuhan aerobik karena akan memecah  $H_2O_2$  yang bersifat racun terhadap sel mikroba (Hidayat dan Alhadi, 2012). Senyawa tersebut bersifat toksik terhadap sel karena mampu menginaktivasi enzim dalam sel. Hidrogen peroksida terbentuk

sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut.

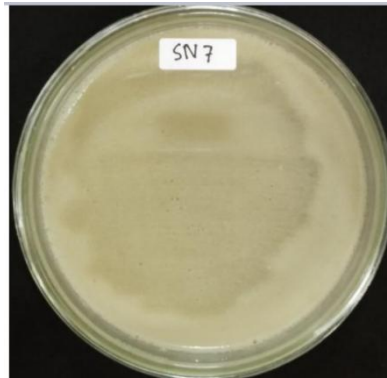
Mekanisme enzim katalase dalam memecah  $H_2O_2$  adalah saat melakukan respirasi, bakteri menghasilkan berbagai macam komponen salah satunya  $H_2O_2$ . Bakteri yang memiliki kemampuan memecah  $H_2O_2$  dengan enzim katalase akan segera membentuk suatu sistem pertahanan dari toksik  $H_2O_2$  yang dihasilkannya sendiri. Bakteri akan memecah  $H_2O_2$  menjadi  $H_2O$  dan  $O_2$  dimana parameter yang menunjukkan adanya aktifitas katalase tersebut adalah adanya gelembung-gelembung gas seperti pada percobaan yang telah dilakukan. Hal tersebut berbeda dengan bakteri tanpa enzim katalase, sehingga pada saat terjadi metabolisme anaerob, bakteri tidak akan menghasilkan oksigen (Hidayat dan Alhadi, 2012).



Gambar 10. Reaksi positif isolat SN1 pada uji katalase

#### g. Pertumbuhan pada media YDC

Uji pertumbuhan pada media YDC dilakukan untuk bakteri gram negatif, yaitu isolat SN7. Setelah dilakukan uji anaerob dan isolat SN7 menunjukkan reaksi positif, dilanjutkan dengan uji pertumbuhan pada media YDC sesuai pedoman diagram Schaad. YDC (Yeast Dextrose Carbonat) adalah media selektif untuk pertumbuhan bakteri *Pantoea* sp. (Schaad *et al.*, 2001). Uji YDC dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri termasuk dalam genus *Pantoea* atau *Erwinia*. Reaksi positif ditandai dengan pertumbuhan koloni yang berwarna kuning, sedangkan reaksi negatif berwarna putih. Berdasarkan hasil penelitian bakteri toleran salin isolat SN7 menunjukkan reaksi negatif, seperti yang tertera pada Gambar 11 sehingga dapat diklasifikasikan kedalam genus *Erwinia*.

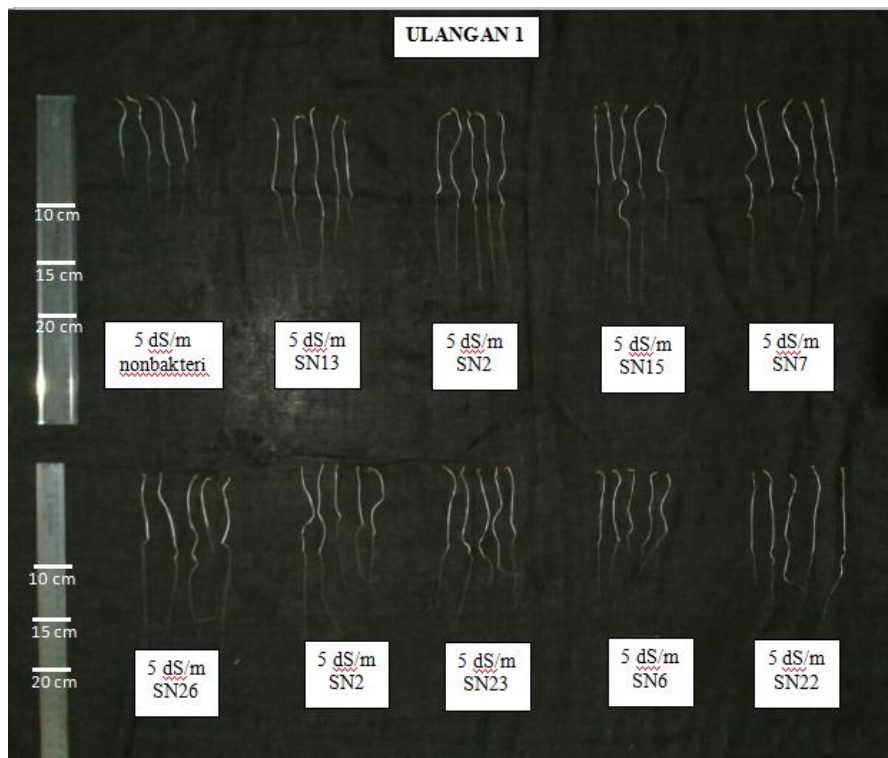


Gambar 11. Koloni putih isolat SN7 pada media YDC

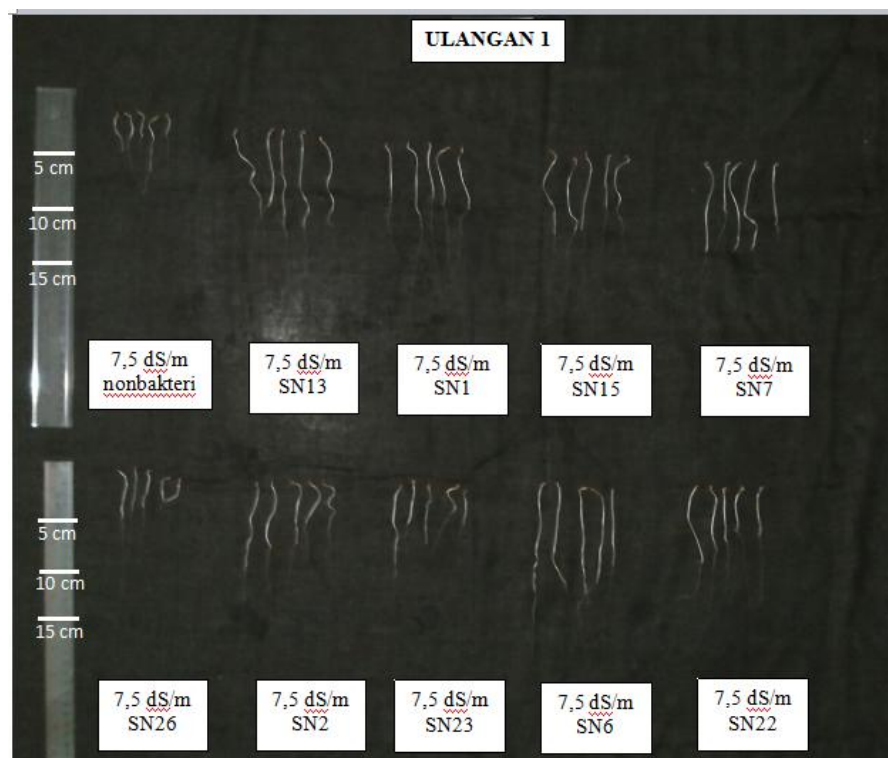
Dari hasil identifikasi berdasarkan pedoman diagram Schaad, dapat disimpulkan klasifikasi genus dari sembilan isolat bakteri toleran salin adalah SN1: *Corynebacterium* sp., SN2: *Corynebacterium* sp., SN6: *Bacillus* sp., SN7: *Erwinia* sp., SN13: *Streptomyces* sp., SN15: *Corynebacterium* sp., SN22: *Bacillus* sp., SN23: *Corynebacterium* sp., dan SN26: *Bacillus* sp.

#### **4.2 Seleksi bakteri toleran salin terhadap peningkatan pertumbuhan benih tomat dibawah cekaman salin**

Pada penelitian ini salinitas memberikan pengaruh yang cukup signifikan terhadap perkecambahan, panjang hipokotil dan akar perkecambahan benih tomat seperti yang tertera pada Tabel 4. Aplikasi bakteri toleran salin ternyata juga memberikan peningkatan terhadap perkecambahan, panjang hipokotil dan akar perkecambahan benih tomat. Pemberian bakteri pada media dengan konsentrasi cekaman salinitas yang berbeda memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan kecambah tomat, yaitu parameter persentase perkecambahan, panjang hipokotil, dan panjang akar perkecambahan. Hasil tersebut sejalan dengan Chookietwattana *et al.* (2012) bahwa aplikasi bakteri toleran salin mampu meningkatkan persentase perkecambahan, panjang hipokotil, dan panjang akar perkecambahan tanaman tomat pada kondisi salin.



Gambar 12. Hasil pengamatan uji kecambah benih tomat pada kadar salin 5 dS/m



Gambar 13. Hasil pengamatan uji kecambah benih tomat pada kadar salin 7,5 dS/m



Tabel 4. Rata-rata persentase perkecambahan, panjang hipokotil, dan panjang akar perkecambahan dengan isolat bakteri pada media salin 5 dS/m dan 7,5 dS/m

PERLAKUAN	PARAMETER		
	Persentase Perkecambahan (%)	Panjang Hipokotil (cm)	Panjang Akar Perkecambahan (cm)
5 dS/m tanpa bakteri	82,70 efgh	6,88 cd	7,65 def
5 dS/m SN1 <i>Corynebacterium</i> sp.	94,70 j	9,42 l	8,93 i
5 dS/m SN2 <i>Corynebacterium</i> sp.	97,30 j	8,27 hijk	7,90 fg
5 dS/m SN6 <i>Bacillus</i> sp.	92,00 ij	7,55 defgh	8,42 ghi
5 dS/m SN7 <i>Erwinia</i> sp.	96,00 j	9,03 kl	8,38 ghi
5 dS/m SN13 <i>Streptomyces</i> sp.	86,70 ghi	8,37 ijk	7,21 cde
5 dS/m SN15 <i>Corynebacterium</i> sp.	84,00 fgh	7,83 efghi	8,14 fgh
5 dS/m SN22 <i>Bacillus</i> sp.	81,30 efg	8,42 ijk	8,54 hi
5 dS/m SN23 <i>Corynebacterium</i> sp.	97,30 j	8,71 jkl	8,68 hi
5 dS/m SN26 <i>Bacillus</i> sp.	88,00 hi	8,42 ijk	8,93 i
7,5 dS/m tanpa bakteri	58,70 a	4,34 a	6,18 a
7,5 dS/m SN1 <i>Corynebacterium</i> sp.	85,30 fgh	7,67 efghi	8,24 fgh
7,5 dS/m SN2 <i>Corynebacterium</i> sp.	74,70 cd	6,42 bc	7,14 cd
7,5 dS/m SN6 <i>Bacillus</i> sp.	85,30 fgh	8,13 ghij	7,78 ef
7,5 dS/m SN7 <i>Erwinia</i> sp.	80,00 def	7,36 defg	7,86 fg
7,5 dS/m SN13 <i>Streptomyces</i> sp.	86,70 ghi	7,95 fghij	7,72 def
7,5 dS/m SN15 <i>Corynebacterium</i> sp.	88,00 hi	7,29 def	7,68 def
7,5 dS/m SN22 <i>Bacillus</i> sp.	77,30 cde	7,11 cde	8,46 ghi
7,5 dS/m SN23 <i>Corynebacterium</i> sp.	68,00 b	6,05 b	6,79 bc
7,5 dS/m SN26 <i>Bacillus</i> sp.	72,00 bc	5,75 b	6,32 ab
<b>KK</b>	<b>10,50%</b>	<b>14,20%</b>	<b>10,60%</b>
<b>SD</b>	<b>10,06</b>	<b>1,22</b>	<b>0,79</b>

Keterangan: KK = Koefisien Keragaman, SD = Standar Deviasi. Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama, pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan hasil uji DMRT 5%

Nilai rata-rata persentase perkecambahan benih tomat yang disajikan pada Tabel 4 menunjukkan bahwa secara umum semakin meningkatnya cekaman salinitas mampu menurunkan persentase perkecambahan benih tomat. Hal ini terlihat pada Gambar 12 dan 13 yang menunjukkan pada cekaman salin sebesar 5 dS/m memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan pada cekaman salin 7,5 dS/m. Meskipun begitu dengan adanya aplikasi bakteri toleran salin mampu menekan dampak buruk cekaman salin dilihat dari persentase perkecambahan

benih tomat yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan non bakteri. Persentase perkecambahan terbaik ada di perlakuan bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN2 *Corynebacterium* sp., SN6 *Bacillus* sp., SN7 *Erwinia* sp., SN23 *Corynebacterium* sp. pada media tanam salin 5 dS/m. Sedangkan pada cekaman salinitas 7,5 dS/m perlakuan terbaik ada pada bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN6 *Bacillus* sp., SN13 *Streptomyces* sp., dan SN15 *Corynebacterium* sp..

Nilai rata-rata panjang hipokotil pada tomat yang disajikan pada Tabel 4 juga menunjukkan hasil secara umum pada cekaman salin sebesar 7,5 dS/m panjang hipokotil lebih kecil dibandingkan pada cekaman 5 dS/m, seperti yang terlihat pada gambar 12 dan 13. Nilai rata-rata panjang hipokotil terbaik terdapat di perlakuan bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN7 *Erwinia* sp., SN23 *Corynebacterium* sp. pada cekaman salin 5 dS/m. Sedangkan pada cekaman salin 7,5 dS/m perlakuan terbaik ada pada bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN6 *Bacillus* sp., dan SN13 *Streptomyces* sp.

Nilai rata-rata panjang akar perkecambahan pada tomat yang disajikan pada Tabel 4 juga menunjukkan bahwa semakin meningkatnya cekaman salinitas mampu menurunkan panjang akar perkecambahan. Dapat juga dilihat dari gambar 12 dan 13, hasil secara umum pada cekaman salin sebesar 7,5 dS/m menunjukkan panjang akar lebih kecil dibandingkan pada cekaman 5 dS/m. Nilai rata-rata panjang akar terbaik terdapat di perlakuan bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN6 *Bacillus* sp., SN7 *Erwinia* sp., SN22 *Bacillus* sp., SN23 *Corynebacterium* sp., SN26 *Bacillus* sp. pada cekaman salin 5 dS/m. Sedangkan pada cekaman salinitas 7,5 dS/m perlakuan terbaik ada pada isolat bakteri SN1 *Corynebacterium* sp., SN6 *Bacillus* sp., SN7 *Erwinia* sp., SN13 *Streptomyces* sp., dan SN22 *Bacillus* sp..

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat bakteri toleran salin memberikan peranan terhadap pertumbuhan benih tomat, baik dilihat dari parameter panjang hipokotil, akar perkecambahan, maupun persentase perkecambahan. Berdasarkan hasil statistik menunjukkan bahwa isolat bakteri tersebut memiliki kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan benih tomat dibawah cekaman salin. Perlakuan tertinggi pada parameter panjang hipokotil dan panjang akar perkecambahan yaitu isolat SN1 *Corynebacterium* sp. pada kadar salinitas 5 dS/m (9,4 cm dan 8,9 cm), pada parameter persentase perkecambahan yaitu isolat SN23 *Corynebacterium* sp. pada kadar salinitas 5 dS/m (97,3%).

Menurut Alsadon *et al.* (2013) perlakuan salinitas dapat menurunkan tinggi tanaman tomat 13,4% dibandingkan tanpa perlakuan salinitas. Hal ini dapat dikaitkan dengan hasil penelitian yang menunjukkan perkecambahan tomat yang paling baik terdapat pada media dengan konsentrasi cekaman salin 5 dS/m, dibandingkan konsentrasi 7,5 dS/m. Cekaman salinitas merupakan salah satu faktor yang mampu membatasi pertumbuhan berbagai jenis tanaman. Banyak proses biokimia dan fisiologi tanaman yang terganggu akibat cekaman salinitas. Tumbuhan akan menghasilkan etilen sebagai respon adanya cekaman salah satunya salinitas. Adanya hormon etilen (*salt stress-induced ethylene*) dapat menghambat elongasi akar dan tunas, menekan perluasan daun, dan memicu epinasti (Smalle and Van der Straeten, 1997). Hormon etilen sebenarnya menguntungkan bagi tanaman namun apabila biosintesis etilen terlalu tinggi akibat cekaman lingkungan akan justru menghambat pertumbuhan akar tanaman dan melemahkan ketahanan tanaman terhadap berbagai cekaman (Glick, 2014). Penrose and Glick, (2003) menjelaskan bahwa bakteri toleran salin mengandung hormon ACCD (*1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase*), yang jika diinokulasikan ke tanaman mampu mengurangi pembentukan hormon salt stress-induced ethylene tersebut.

Pada dasarnya, kehilangan tanaman dari sekitar 40% fotosintat adalah melalui eksudat akar. Sebagian besar ACC (*1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid*) yang merupakan prekursor pembentukan *salt stress-induced ethylene*, dapat dihasilkan dari akar tanaman tersebut, dan kemudian dihidrolisis oleh enzim ACCD menjadi ammonia dan  $\alpha$ -ketobuirat. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak ACC yang dihasilkan oleh akar tanaman tanpa adanya enzim ACCD, maka akan semakin cepat terbentuk hormon *salt stress-induced ethylene* (Siddikee *et al.*, 2010). ACCD adalah enzim sitoplasma yang diproduksi beberapa bakteri untuk mendegradasi ACC (prekursor hormon etilen pada tanaman) menjadi ammonia dan  $\alpha$ -ketobuirat yang merupakan sumber N dan karbon bagi bakteri (Glick, 2014). Degradasi ACC oleh enzim ACCD akhirnya akan dapat mengurangi biosintesis *salt stress-induced ethylene* dalam tubuh tanaman dan kerusakan tanaman dapat direduksi. Oleh karena itu, bakteri PGPR toleran yang mengandung enzim ACCD sangat penting digunakan untuk mengurangi dampak negatif dari cekaman salin. Hal tersebut sejalan dengan Siddikee *et al.* (2010) yang menjelaskan bahwa bakteri toleran salin genus *Bacillus* dan *Corynebacterium* positif mengandung hormon ACCD. Palaniyandi *et al.* (2014)

juga melaporkan bahwa 8 strain isolat bakteri genus *Streptomyces* mengandung hormon ACCD. Dari hasil penelitian tersebut bakteri toleran salin yang didapat dari daerah pesisir Lamongan diduga mengandung *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase* sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan benih tomat walaupun berada di cekaman salin.

Salinitas juga mampu mengurangi kandungan potasium (K) dan menurunkan penyerapan fosfat oleh tanaman. Hal ini membuktikan ada dampak negatif salinitas terhadap pertumbuhan tanaman, termasuk kekurangan dan ketidakseimbangan nutrisi. Dengan demikian aplikasi bakteri rhizosfer penambat N<sub>2</sub> dan pelarut fosfat dapat mengurangi kerusakan tanaman pada kondisi salin. Bakteri tertentu dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti auksin ( IAA), meningkatkan serapan hara, misalnya fiksasi N<sub>2</sub>, pelarutan PO<sub>4</sub>, dan produksi siderofor dan kelangsungan hidup dalam kondisi tercekam, seperti produksi ACC Deaminase (Susilowati, 2015).

Pemanfaatan bakteri rizosfer dan endofit sebagai agens hayati berhubungan dengan kemampuannya dalam menginduksi ketahanan tanaman terhadap cekaman abiotik maupun biotik, meningkatkan ketersediaan unsur hara, dan kemampuannya dalam memproduksi metabolit sekunder yang berupa hormon alami. Bakteri mampu membantu tanaman dalam cekaman lingkungan dengan berperan sebagai biofertilizer, biostimulan, dan bioprotektan (Rai, 2006). Bakteri rizosfer dan endofit berperan sebagai biostimulan dengan cara mengatur konsentrasi beberapa zat pengatur tumbuh (fitohormon) seperti IAA (*indole acetic acid*). Fungsi hormon IAA bagi tumbuhan adalah meningkatkan perkembangan sel, merangsang pembentukan akar baru, memacu pertumbuhan, merangsang pembungaan, dan meningkatkan aktifitas enzim. (Arshad *et al.*, 1993). Berdasarkan hasil penelitian, bakteri toleran salin diduga mengandung fitohormon yaitu IAA karena mampu meningkatkan pertumbuhan benih tomat dibawah kondisi cekaman salin. Hal tersebut juga sejalan dengan hasil penelitian Cahyaty (2015) yang menunjukkan bahwa bakteri *Bacillus* sp yang diisolasi dari lahan salin mengandung hormon IAA. Siddike *et al.* (2010) menyebutkan bakteri toleran salin genus *Bacillus* dan *Corynebacterium* positif mengandung hormon IAA. Palaniyandi *et al.* (2014) juga menyatakan bahwa *Streptomyces* mengandung IAA, mampu mengurangi cekaman salin, dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman tomat. Hormon IAA diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan

tanaman dalam kondisi cekaman salin, diantaranya mampu membantu pembelahan dan pembesaran sel pada akar. IAA merupakan salah satu fitohormon golongan auksin alami dan berperan sebagai zat pemacu pertumbuhan tanaman karena dapat meningkatkan sintesis DNA dan RNA, serta mampu meningkatkan pertukaran proton (Kresnawaty, 2008).

Peran mikroba dalam siklus berbagai unsur hara didalam tanah sangat penting, sehingga keberadaan bakteri sangat mempengaruhi ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Ketersediaan unsur hara sangat berkaitan dengan aktifitas bakteri yang terlibat didalamnya. Bakteri rizosfer dan endofit mampu berperan sebagai biofertilizer karena dapat memfiksasi nitrogen dan pelarut fosfat (Furnkranz *et al.*, 2009 dan Goodwin *et al.*, 1983). Berdasarkan hasil penelitian, bakteri toleran salin mampu meningkatkan pertumbuhan benih tomat dibawah cekaman salin. Hal ini diduga bakteri toleran salin tersebut mampu memfiksasi nitrogen dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia oleh tanaman. Pada fase pertumbuhan tanaman nitrogen berfungsi untuk membantu pembentukan fotosintat yang selanjutnya akan digunakan untuk membentuk sel-sel baru, perpanjangan dan pembesaran sel. Pembentukan dan pemanjangan sel akan mempengaruhi pertumbuhan organ vegetatif tanaman seperti batang dan daun (Irdiana *et al.*, 2002). Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Cahyaty (2015) yang menunjukkan bahwa beberapa isolat bakteri toleran salin mampu menambat nitrogen. Bakteri penambat nitrogen mampu menyuplai kebutuhan nitrogennya dengan cara menambat  $N_2$  bebas diudara dengan bantuan enzim nitrogenase dan mengubahnya menjadi protein.

Lingkungan salin merupakan habitat yang ekstrim untuk pertumbuhan mikroba. Kelimpahan, komposisi, keragaman, dan fungsi metabolik komunitas mikrob lebih rendah di lingkungan salin dan hipersalin (Jiang *et al.* 2007). Tipe lingkungan seperti ini disukai oleh sejumlah bakteri halotoleran yang tidak memerlukan NaCl untuk tumbuh dan halofilik yang memerlukan NaCl untuk pertumbuhannya. Habitat utama mikroorganisme halofilik adalah di daerah air asin seperti danau air asin, laut, daerah laut dalam, lumpur, dan tambak. Selain di daerah basah mikroorganisme halofilik juga dapat hidup di daerah kering seperti tanah salin. Cara adaptasi mikroorganisme halofilik dan beberapa *extreme* halofilik adalah dengan mengakumulasi ion anorganik dalam sitoplasma ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Cl^-$ ) untuk menyeimbangkan tekanan osmotik sel dengan lingkungan. Sementara itu, mikroorganisme *moderate* halofilik mengakumulasi senyawa *osmolytes*

organik tertentu pada sitoplasma yang berfungsi sebagai *osmoprotectans* sehingga memberikan keseimbangan osmotik tanpa mengganggu metabolisme sel (Niето dan Vargas, 2002). Faktor selain cara adaptasinya yang menyebabkan mikroorganisme halofilik dapat hidup pada kadar garam tinggi adalah mikroorganisme halofilik memiliki enzim yang stabil pada kadar garam tinggi (Gupta, 2012).

Dari hasil penelitian, isolat bakteri yang konsisten menunjukkan hasil terbaik terhadap peningkatan pertumbuhan benih tomat pada masing-masing parameter di cekaman salin 5 dS/m yaitu SN1 *Corynebacterium* sp, SN7 *Erwinia* sp., dan SN23 *Corynebacterium* sp, sedangkan pada cekaman salin 7,5 dS/m yaitu SN1 *Corynebacterium* sp, SN6 *Bacillus* sp., dan SN13 *Streptomyces* sp. Isolat-isolat tersebut mampu memberikan hasil terbaik pada masing-masing parameter pengamatan yaitu persentase perkecambahan, panjang hipokotil, dan panjang akar. Adanya perbedaan bakteri terbaik pada kondisi cekaman salin diduga diakibatkan kemampuan bakteri yang berbeda pada kondisi cekaman salin yang berbeda pula. Hal tersebut sejalan dengan pernyataan Susilowati (2015) yaitu terdapat tiga kelompok bakteri halofil berdasarkan respon pertumbuhan optimumnya terhadap kadar NaCl, yaitu agak halofil (tumbuh pada 2-5% NaCl), halofil moderat (tumbuh pada 5-20% NaCl), dan halofil ekstrim (tumbuh pada 20-30% NaCl). Dari pernyataan tersebut dapat diasumsikan isolat bakteri SN6 *Bacillus* sp. dan SN13 *Streptomyces* sp. termasuk kedalam bakteri halofil moderat karena mampu tumbuh baik pada cekaman salin yang lebih tinggi yaitu 7,5 dSm dibandingkan cekaman salin 5 dS/m.

Bakteri *Bacillus* sp. dikenal sebagai bakteri Gram positif aerob yang dapat membentuk endospora secara intraseluler sebagai respon terhadap kondisi lingkungan yang menguntungkan, oleh karena itu *Bacillus* sp. memiliki toleransi yang tinggi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem, termasuk cekaman salin. Selain itu, berdasarkan hasil penelitian Susilowati (2015) menunjukkan *Bacillus subtilis* complex banyak ditemukan di lahan salin dengan kadar salinitas tertinggi, sehingga dapat diasumsikan bahwa isolat SN6 yang setelah diidentifikasi merupakan genus *Bacillus* merupakan bakteri halofil moderat, yang menunjukkan kemampuan memiliki kemampuan lebih bagus dalam peningkatan pertumbuhan benih tomat pada cekaman salin 7,5 dS/m dibandingkan 5 dS/m. Sifat dan karakteristik pada bakteri genus *Bacillus* berbeda-beda antar spesies. Dinding sel vegetatif pada kebanyakan *Bacillus* sp. terbuat dari peptidoglikam yang

mengandung *Mesodiaminopimelic Acid* (DAP) dengan tipe *Glyserol Teichoic Acid* sangat bervariasi diantara spesies. Setiap jenis *Bacillus* juga menunjukkan kemampuan dan ketahanan yang berbeda-beda dalam menghadapi kondisi lingkungannya, misalnya ketahanan panas, asam, kadar garam, dan sebagainya (Rheinheimer, 1980). Perbedaan karakteristik dan sifat inilah yang memungkinkan kemampuan beberapa bakteri *Bacillus sp.* toleran salin dalam peningkatan pertumbuhan benih tomat dibawah cekaman salin berbeda-beda, seperti yang ditunjukkan isolat SN6, SN22, dan SN26 pada masing-masing parameter.

Selain itu beberapa spesies *Streptomyces* juga banyak ditemukan di tanah pesisir dengan salinitas moderat, seperti *Streptomyces variabilis* dan *Streptomyces coelicoflavus* (Susilowati, 2015). Penemuan *Streptomyces* yang diisolasi dari daerah yang berdekatan dengan laut juga telah dilaporkan sebelumnya, antara lain *Streptomyces variabilis* SU 5 dari sedimen laut (Pan *et al.*, 2012) dan *Streptomyces coelicoflavus* BC 01 dari tanah pertanaman bakau (Rao dan Rao, 2013). Hal ini menunjukkan bahwa *Streptomyces sp.* yang ditemukan di lahan salin merupakan bakteri halofil moderat, sehingga sejalan dengan hasil penelitian yang menunjukkan bahwa bakteri isolat SN13 yang setelah diidentifikasi merupakan genus *Streptomyces* memiliki kemampuan lebih bagus dalam peningkatan pertumbuhan benih tomat pada cekaman salin 7,5 dS/m dibandingkan 5 dS/m.

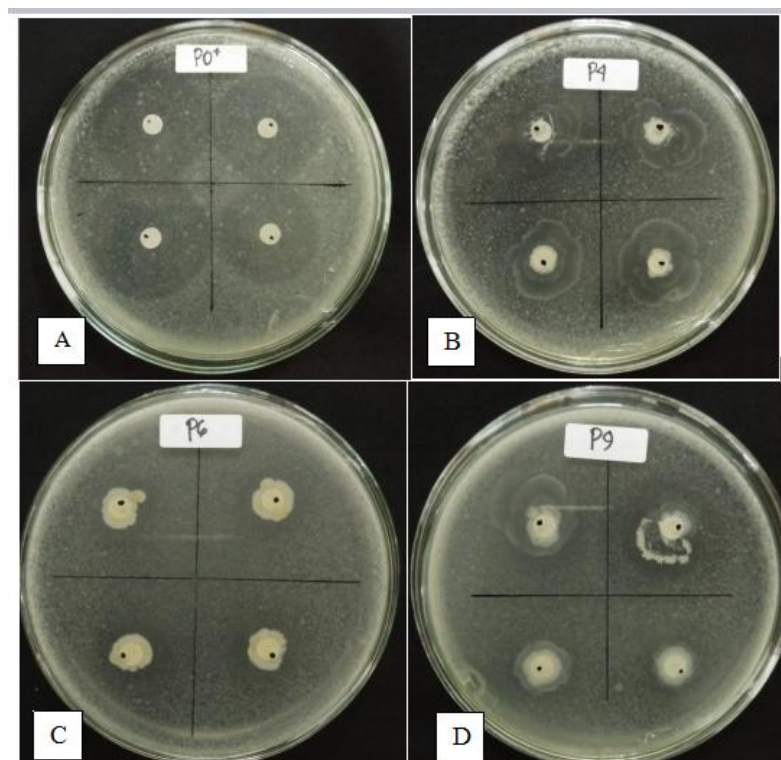
#### **4.3 Seleksi kemampuan antagonis bakteri toleran salin terhadap *Ralstonia solanacearum* secara *in vitro***

Kemampuan bakteri toleran salin dalam menghambat pertumbuhan patogen *Ralstonia solanacearum* dapat diuji pada skala laboratorium untuk menguji potensi dan mekanisme penghambatannya. Hasil analisis ragam menunjukkan pengaruh yang nyata pada uji antagonis secara *in vitro* antara isolat-isolat bakteri toleran salin terhadap *Ralstonia solanacearum*. Dari 9 isolat yang diuji, terdapat 3 bakteri yang mampu menghambat pertumbuhan perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum*, seperti yang tertera pada Tabel 5. Adanya zona bening disekitar kertas saring mengindikasikan terdapat aktifitas penghambatan yang dihasilkan bakteri toleran salin berupa antibiosis terhadap patogen. Menurut Cook dan Baker (1989), terbentuknya zona bening dikarenakan adanya kompetisi ruang dan nutrisi media antara bakteri antagonis dan patogen.

Tabel 5. Rata-rata indeks penghambatan bakteri toleran salin terhadap *Ralstonia solanacearum*

PERLAKUAN	RATA-RATA (cm)
Bakterisida Streptomycin sulfat 20%	0,831 d
Aquades	0,000 a
SN1 <i>Corynebacterium</i> sp.	0,000 a
SN2 <i>Corynebacterium</i> sp.	0,715 b
SN6 <i>Bacillus</i> sp.	0,000 a
SN7 <i>Erwinia</i> sp.	0,773 c
SN13 <i>Streptomyces</i> sp.	0,000 a
SN15 <i>Corynebacterium</i> sp.	0,000 a
SN22 <i>Bacillus</i> sp.	0,706 b
SN23 <i>Corynebacterium</i> sp.	0,000 a
SN26 <i>Bacillus</i> sp.	0,000 a
<b>KK</b>	<b>1,350%</b>
<b>SD</b>	<b>0,210</b>

Keterangan: KK = Koefisien Keragaman. SD = Standar Deviasi. Data ditransformasi menggunakan akar kuadrat. Bilangan yang diikuti oleh huruf yang sama, pada kolom yang sama menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata berdasarkan hasil uji DMRT 5%



Gambar 14. Zona bening pada perlakuan: (A) Streptomycin; (B) SN7 *Erwinia* sp.; (C) SN2 *Corynebacterium* sp.; (D) SN22 *Bacillus* sp.

Hasil rata-rata indeks penghambatan dari tabel diatas menunjukkan perlakuan tertinggi ada pada bakterisida *Streptomycin* yaitu sebesar 0,831 cm. Menurut Jawetz *et al.* (1996), *Streptomycin* memiliki kemampuan yang cukup baik



dalam merusak membran sel dan menghambat sintesis protein sehingga mampu menekan perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum*.

Rata-rata indeks penghambatan yang tidak berbeda nyata dihasilkan oleh SN2 (*Corynebacterium*) dan SN22 (*Bacillus sp.*). Hal ini mengindikasikan kedua isolat bakteri memiliki kemampuan yang sama dalam menekan pertumbuhan patogen *Ralstonia solanacearum*. *Bacillus sp.* merupakan bakteri Gram positif yang dikenal sebagai agen biokontrol untuk menekan pertumbuhan patogen. Menurut Saputra *et al.* (2015), *Bacillus spp.* dan *Pseudomonas spp.* adalah bakteri yang paling banyak digunakan dalam pengendalian hayati penyakit berbagai tumbuhan. Penggunaan bakteri pengendali hayati telah banyak menunjukkan keberhasilannya. Hasil penelitian Arwiyanto *et al.* (2007) menunjukkan bahwa terdapat tiga isolat *Bacillus sp.* yang mampu menghambat tiga jenis isolat *Ralstonia solanacearum* yang diisolasi dari lahan tembakau di daerah Temanggung.

*Corynebacterium sp.* juga dikenal sebagai bakteri yang bersifat antagonis terhadap patogen. Hal tersebut dapat dilihat dari hasil penelitian bahwa *Corynebacterium sp.* mampu menghambat perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum*. Menurut Hanudin *et al.* (2010), *Corynebacterium sp.* terbukti efektif mengendalikan penyakit yang disebabkan oleh cendawan dan bakteri pada tanaman pangan dan hortikultura, seperti penyakit kresek pada padi dan penyakit layu, serta bercak daun pada cabai serta kubis-kubisan. Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat dipastikan bahwa bakteri *Corynebacterium sp.* memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai agens pengendali hayati untuk pengendalian patogen *Ralstonia solanacearum*

Isolat bakteri SN7 (*Erwinia sp.*) memiliki rata-rata indeks penghambatan terbesar setelah bakterisida dalam menekan perkembangan patogen. Genus *Erwinia sp.* dikenal sebagai bakteri patogen penyebab penyakit tanaman. Namun di sisi lain, *Erwinia sp.* juga mampu berperan sebagai agen biokontrol terhadap penyakit tanaman tertentu. Hal tersebut sejalan dengan Vanneste *et al.* (1992) yang mengatakan bahwa *Erwinia herbicola* merupakan bakteri nonpatogenik yang mampu menghambat pertumbuhan patogen *Erwinia amylovora*. *Erwinia sp.* juga mampu berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman menurut Orhan *et al.* (2006). Berdasarkan hasil penelitian dapat diasumsikan bahwa isolat SN7 merupakan bakteri genus *Erwinia sp.* nonpatogenik yang memiliki potensi

antagonis untuk menekan perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum* disamping sebagai PGPR.

Dari hasil penelitian, isolat yang digunakan memiliki kemampuan antagonis yang berbeda-beda dalam menghambat patogen *Ralstonia solanacearum* meskipun ada yang tergolong kedalam genus yang sama, seperti isolat SN1, SN2, SN15, dan SN23 yang merupakan genus *Corynebacterium*, hanya isolat SN2 yang mampu menghasilkan zona bening. Begitu juga dengan isolat SN2, SN22, dan SN26 yang tergolong genus *Bacillus sp.*, hanya satu isolat yaitu SN22 yang mampu menekan perkembangan patogen *Ralstonia solanacearum*.

Perbedaan zona hambat pada isolat bakteri toleran salin diduga karena kondisi dan kandungan nutrisi pada media yang digunakan. Hal tersebut menyebabkan bakteri tidak dapat menghasilkan senyawa antibiosis. Menurut Al-Zahrani (2007), senyawa antibiosis pada bakteri antagonis sangat dipengaruhi oleh komposisi medium, baik secara kuantitatif maupun kualitatif. Menurut Saputra *et al.* (2015) *Bacillus sp* diketahui sebagai bakteri yang mampu menghasilkan senyawa antibiosis yang beragam. Hasil penelitian Moore *et al.* (2013) juga menunjukkan tujuh strain *Bacillus* yang digunakan tidak memperlihatkan adanya zona hambatan terhadap enam bakteri patogen pada tiga jenis media (NZY agar, NA (Nutrient Agar) dan TSA (Trypticase Soy Agar) dari empat jenis media yang digunakan. Hal ini memungkinkan bakteri lain juga menghasilkan senyawa antibiosis yang beragam dilihat dari hasil penelitian yang tidak menunjukkan zona bening. Hal ini membuktikan berdasarkan hasil penelitian tidak terbentuknya zona hambatan pada beberapa isolat bakteri toleran salin diduga dikarenakan senyawa antibiosis yang dihasilkan beragam sehingga kondisi media tumbuh banyak yang tidak sesuai.

Adanya perbedaan sifat dari bakteri uji yang digunakan baik secara morfologi dan fisiologi juga menjadi salah satu faktor. Selain itu, juga disebabkan oleh senyawa metabolit sekunder yang dihasilkan oleh masing-masing isolat memiliki struktur kimia, komposisi dan kandungan/konsentrasi yang berbeda. Menurut Jawetz *et al.* (1992) adanya perbedaan jenis antibiotik dengan bermacam-macam struktur kimia yang ditemukan dapat mempengaruhi mekanisme dan letak kerjanya pada bakteri. Kondisi lingkungan diduga juga mempengaruhi aktifitas antagonis bakteri toleran salin seperti suhu dan ruang penyimpanan/inkubasi yang kurang sesuai/ steril.