

IDENTIFIKASI MORFOLOGI DAN UJI PELARUT FOSFAT BAKTERI RHIZOSFER TANAMAN KACANG TUNGGAK (*Vigna Unguiculata L.*)

*Identification of Morphology and Solvent test of Bacterial Phosphate Isolates From the Rhizosphere of Cowpea Plant (*Vigna Unguiculata L.*)*

Rizki Aryaldi¹, Saida², Maimuna Nontji²

¹Mahasiswa Program Studi Agroteknologi, Faperta UMI, Makassar

²Dosen Program Studi Agroteknologi Universitas Muslim Indonesia

E-mail: rizkiaryaldi@gmail.com saida.saida@umi.ac.id
mey.amin68@gmail.com

ABSTRACT

*Morphological Identification and Solvent Test of Bacterial Phosphate Isolates From the Rhizosphere of Cowpea Plant (*Vigna Unguiculata L.*). This research was conducted with the aim of knowing the morphological characteristics of the bacteria from the cowpea rhizosphere, carrying out the solvent test for bacterial isolates from the rhizosphere of cowpea plants, conducting the rhizobium test on yeast extract mannitol agar (YEMA) media with indicators congo red (CR) and bromine thymol blue (BTB). This research was conducted at the Laboratory of Microbiology, Faculty of Pharmacy, and the Laboratory of Plant Pests and Diseases. This research took place from January to November 2020. Identification of bacterial colony morphology includes colony color, shape, edge, elevation and consistency, phosphate solvent test was carried out using phycovskaya media, rhizobium bacteria testing was tested on YEMA+CR and YEMA+BTB media. The results of this study indicated that 12 isolates had different morphological characteristic. From the phosphate dissolution test, only 4 isolates were obtained which had the potential to dissolve phosphate, the highest dissolution index of the 4 isolates obtained was seen in 19 isolates with an average IPF of 0,71. Rhizobium bacteria test on cowpea rhizosphere bacteria isolates using YEMA congo red and bromine thymol blue media, no isolates have been identified as rhizobium bacteria.*

Keywords : Phosphate Solubilizing Bacteria; Cowpea Rhizosphere

PENDAHULUAN

Rizobakteri adalah kelompok bakteri rizosfer yang memiliki kemampuan menduduki rizosfer secara agresif dan rizobakteri yang memberi keuntungan bagi tanaman. Sejak pertama kali diperkenalkan oleh Kloepper (1978), perkembangan penelitian *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) mengalami kemajuan pesat, terutama dalam beberapa tahun terakhir (Husen E, Saraswati R. 2003).

Penelitian yang membuktikan bahwa bakteri rhizosfer dapat mendukung pertumbuhan tanaman telah banyak dilakukan, seperti yang dilaporkan oleh Setiadi (2003) bahwa bakteri rhizosfer dapat meningkatkan ketersediaan hara fosfor. Selanjutnya Saraswati *et al* (2006) melaporkan bahwa bakteri rhizosfer dapat meningkatkan ketersediaan nitrogen dan kalium. Selain itu

ketahanan pada penyakitpun akan meningkat bahkan dapat meningkatkan toleransi tanaman terhadap logam berat maupun kondisi lahan kritis (Setiadi, 2003).

Tanaman kacang-kacangan yang dikenal dapat berinteraksi dengan bakteri rhizosfer dan saling menguntungkan adalah tanaman kacang kedelai dan tanaman kacang tunggak dengan bakteri rhizobium. Bakteri rhizosfer ini dapat melakukan fiksasi nitrogen yang dibutuhkan untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Tanaman ini efisien menggunakan nitrogen dari udara melalui bakteri Rhizobium, kacang tunggak memiliki bintil akar yang besar berbentuk bulat seperti biji kacang kapri (Allen dan Allen,1981).

Rhizosfer merupakan lingkungan di sekitar perakaran tanaman yang kayaakan nutrisi, eksudat yang dihasilkan oleh akar tanaman dan sangat diperlukan oleh

mikroorganisme (Dobbelaere *et al*, 2003). Sejumlah bakteri mengkolonisasi akar, hidup secara simbiosis dengan memanfaatkan eksudat akar tanaman (Akhtar, *et al*, 2012). Kelompok bakteri ini dikenal dengan Rhizobakteri Pemacu Tumbuh Tanaman (RPTT). Group RPTT mampu mensekresikan senyawa-senyawa yang berguna bagi pertumbuhan tanaman, menghasilkan antibiotik, kompetisi makanan dan menginduksi ketahanan tanaman terhadap patogen penyakit dan hama.

Bakteri *Rhizobium* merupakan jenis bakteri gram negatif, memiliki bentuk seperti batang (basil), koloninya berbentuk sirkuler dengan warna putih Manalu (2011). *Rhizobium* adalah bakteri sejati yang hidup di bawah tanah, dan bersimbiosis dengan bintil akar tanaman kacang-kacangan (leguminoceae). Di alam, bakteri ini sangat penting sebagai pelestari siklus nitrogen. Dimana, siklus nitrogen ini sangat penting bagi tanaman (Madjid, 2009).

Bakteri rhizobium merupakan bakteri yang bersimbiosis dengan tanaman legume yang berfungsi menambat N₂ yang melimpah di udara. Peran utama bakteri Rhizobium adalah menfiksasi nitrogen dengan adanya aktivitas nitrogenase. Tinggi rendahnya aktivitas nitrogenase menentukan banyak sedikitnya pasokan ammonium yang diberikan Rhizobium kepada tanaman. Selain itu Rhizobium yang bereaksi dengan tanaman legum mampu menfiksasi 100-300 kg/ha dalam satu musim tanam dan meningkatkan sejumlah N untuk tanaman berikutnya.(susanto, 2002)

Bakteri Rhizobium memiliki keunikan dibanding mikroorganisme tanah lainnya dalam kemampuannya bersimbiosis dengan tanaman legum untuk menambat N₂. Agar dapat melakukan simbiosis, Rhizobium tidak hanya harus bisa hidup secara saprofit, tetapi juga harus dapat mengalahkan (berkompetisi) dengan Rhizobium yang lain dalam

memperoleh tempat infeksi pada akar tanaman legum. Oleh karena itu, kemampuan fisiologisnya untuk bertahan dalam keadaan yang bagaimanapun merupakan syarat yang penting agar dapat beradaptasi pada lingkungan yang banyak persaingan dan lingkungan tanah yang kompleks (Rahmawati, 2005).

Bakteri pelarut fosfat adalah bakteri yang dapat melarutkan fosfat sukar larut menjadi larut, baik yang berasal dari dalam tanah maupun dari pupuk, sehingga dapat diserap oleh tanaman (Alfiah *et al.*, 2016). Prinsip mekanisme pelarutan mineral fosfat adalah produksi asam-asam organik, dan enzim asam fosfatase yang berperan dalam mineralisasi fosfat organik pada tanah (Setiawati & Pranoto, 2015).

Mikroorganisme pelarut fosfat dapat diisolasi dari tanah yang kandungan fosfatnya rendah terutama disekitar perakaran tanaman, karena bakteri ini menggunakan fosfat dalam jumlah sedikit dan mampu memanfaatkan fosfat dalam jumlah sedikit dan mampu memanfaatkan fosfat tidak tersedia untuk keperluan metabolismenya (Alexander. 1977). Di laboratorium deteksi dan estimasi kemampuan mikroorganisme pelarut fosfat dilakukan dengan menggunakan metode cawan petri. Media selektif yang umum digunakan untuk mengisolasi dan memperbanyak organisme pelarut fosfat adalah media agar phykovskaya (Sundara. Rao dan Sinha, 1963) yang berwarna putih keruh, karna mengandung P tidak larut seperti kalsium fosfat.

Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri tanah yang dapat melarutkan fosfat sehingga dapat diserap oleh tanaman. Bakteri pelarut fosfat mampu mensekresi asam organik sehingga akan menurunkan pH tanah dan memecahkan ikatan pada beberapa bentuk senyawa fosfat untuk ga meningkatkan ketersediaan fosfat dalam larutan tanah (Purwaningsih, 2003). Adapun tujuan dari

penelitian ini yaitu melakukan isolasi dan identifikasi morfologi bakteri *rhizosfer* tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata L.*), melakukan uji pelarut fosfat isolat bakteri *rhizosfer* tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata L.*) dan melakukan uji bakteri *rhizobium* pada media *yeast ekstrak mannitrol agar* (YEMA) dengan indikator *congo red* (CR) dan *brom thymol blue* (BTB).

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Januari 2020 sampai November 2020 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Farmasi, dan Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman Fakultas Pertanian Universitas Muslim Indonesia.

1. Pengambilan sampel tanah rhizosfer

Sampel tanah diambil dari *rhizosfer* tanaman kacang tunggak yang berumur 4 minggu setelah tanam di Desa Selli Kecamatan Bengo Kabupaten Bone. Sampel *rhizosfer* diambil secara acak pada tiga titik masing-masing 2 tanaman pada setiap titik, sehingga diperoleh 6 sampel. Sampel *rhizosfer* diambil pada tanah yang berada di sekitar akar kacang tunggak. Akar tanaman kacang tunggak dipotong menggunakan gunting steril untuk memisahkan dari bagian batang, kemudian 6 sampel tanaman kacang tunggak yang diperoleh dimasukkan ke dalam plastik sampel untuk dianalisis di laboratorium.

2. Analisis sampel tanah rhizosfer

Analisis tanah meliputi kandungan Nitrogen, Posfor, Kalium, C organik dan pH tanah.

Tabel 1. Sifat Kimia Tanah dan Metode Analisis

No.	Analisis	Metode
1.	N-total	(Kjehdahl, 1883)
2.	P ₂ O ₅	(Olsen., 1954)
3.	K ₂ O	Ekstrak KCL 25%
4.	C-organik	Walkley & Black
5.	pH Tanah	Gelas Elektroda pH meter

3. Pelaksanaan Penelitian

a. Sterilisasi alat

Semua alat yang digunakan di cuci dengan deterjen dan dikering anginkan. Alat yang terbuat dari bahan gelas dan tahan panas disterilkan dalam oven pada suhu 180⁰ C selama 2 jam. Alat yang terbuat dari logam seperti jarum ose, pinset disterilkan dengan cara di cuci dengan alkohol 70% lalu dibakar diatas nyala api hingga pijar.

b. Persiapan media NA (*Nutrien Agar*)

Media *Nutrien Agar*, ditimbang sebanyak 8g lalu dilarutkan dalam 1000 ml aquades, kemudian dipanaskan sampai

homogen di atas hotplate bersama stirer, diatur pH sekitar 6,9-7, selanjutnya disterilkan dalam otoklaf pada suhu 121⁰C tekanan 2 atm, selama 15 menit setelah dingin media dituang dalam cawan petri secara aseptik, lalu disiapkan sebagai media pertumbuhan bakteri.

c. Isolasi

Proses isolasi bakteri dilakukan dengan menyiapkan terlebih dahulu sampel *rhizosfer* sebanyak 50 g dalam erlemeyer, lalu ditambahkan aquades sampai 500 ml, kocok dengan sheker selama 20 menit agar partikelnya lepas ke dalam air, lalu diendapkan selama 30 menit.

Seri pengenceran dibuat 10^{-1} sampai 10^{-5} dengan cara masukan air steril sebanyak 9 ml pada setiap tabung reaksi, tabung reaksi berjumlah 5 buah, lalu tabung ditutup dengan aluminium voil, selanjutnya di sterilkan dalam otoklaf.

Sampel rhizosfer yang diendapkan dalam erlemeyer kemudian diambil 1ml untuk di masukkan ke tabung dengan pengenceran 10^{-1} , kocok beberapa menit di atas porteks hingga homogen, lalu diambil 1ml untuk dimasukkan ke tabung pengenceran 10^{-2} , selanjutnya tabung 10^{-2} kocok beberapa menit diatas portek hingga homogen, lalu ambil 1ml untuk dimasukkan ke dalam tabung 10^{-3} demikian seterusnya sampai tabung 10^{-5} .

d. Inokulasi

Inokulasi dilakukan dengan mengambil 1 ml sampel *rhizosfer* pada setiap pengenceran, lalu disemprotkan di atas media NA yang sudah disiapkan sebelumnya, lalu diratakan dengan batang penyebar, kemudian diinkubasi secara aseptik. Setiap pengenceran diulang 3x sehingga diperoleh 15 unit cawan, selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 3 sampai 7 hari.

e. Pemurnian

Pemurnian dilakukan dengan cara mengamati setiap koloni yang tumbuh pada cawan petri, setiap koloni yang berbeda dimurnikan dengan metode cawan gores menggunakan jarum ose pada media yang baru, hal ini dilakukan berulang ulang sampai diperoleh koloni tunggal. Koloni tunggal yang diperoleh ditandai dengan karakteristik yang sama. Isolat murni yang telah diperoleh selanjutnya digores pada media yang baru, isolate inilah yang siap diidentifikasi.

f. Pertumbuhan bakteri pada media selektif *rhizobium* (YEMA)

Media yang digunakan pada uji bakteri *rhizobium* adalah *yeast extract mannitol agar* (YEMA), komposisi media YEMA yaitu *mannitol* 10g; *depotasium phosphate* ($K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$) 0,5 g; *magnesium sulphate* 1g; *sodium cholid* (NaCL) 0,1g; dan agar 20g, adapun indikator yang ditambahkan pada media YEMA adalah *congo red* (CR) 0,025g, dan *brom thymol blue* (BTB) 0,1 ml dalam 1 L aquades. Pertumbuhan dilakukan menggunakan metode gores, dengan mengambil isolat hasil pemurnian dengan ose kemudian digoreskan pada cawan yang berisi media YEMA. Setelah dilakukan penggoresan diinkubasi pada suhu kamar.

g. Persiapan media *phykovskaya*

Media *phykovskaya* ditimbang sebanyak 3,75 gram, lalu dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 250 ml aquades steril. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan plastik wrap, selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu $121^\circ C$ dan tekanan 1 atm selama 15 menit. Media yang telah disterilkan kemudian di tuang ke dalam cawan petri secara aseptik di dalam *Laminar Air Flow* (LAF). Cawan petri ditutup menggunakan plastik *wrap* dan cawan diletakkan secara terbalik agar uap tidak jatuh ke media.

h. Inokulasi pad media *phykovskaya*

Inokulasi dilakukan dengan cara meletakkan 1 ose isolat bakteri di tengah-tengah permukaan media dalam cawan petri. Cawan ditutup dengan plastik warp, lalu diinkubasi pada suhu $25^\circ C$. Selanjutnya diamati setiap hari sampai muncul zona bening.

Parameter Pengamatan

1. Warna

Beberapa spesies bakteri dapat menghasilkan zat warna di dalam sel yang tidak larut dalam air, sehingga menyebabkan koloninya berwarna.

2. Bentuk

Bentuk koloni diamati secara langsung, diatas permukaan agar dalam cawan petri, bentuk koloni dapat berupa bentuk koloni titik-titik, bulat, benang, serupa akar, dan kumparan.

3. Tepi koloni

Bagian tepi koloni bakteri bervariasi, tergantung kepada spesiesnya. Bentuknya melingkar rata seperti tonjolan yang melengung, seperti benang atau seperti akar.

4. Elevasi

Elevasi diamati pada permukaan koloni bakteri diantaranya; *Flat, Raised, Convex, Umbonate*. Elevasi ini bervariasi, tergantung pada spesiesnya, bisa tipis sampai tebal. Permukaanya dapat merata atau bisa menunjukkan adanya variasi kesinambungan.

5. Konsistensi

Konsistensi koloni dapat diketahui dengan menyentuhkan jarum ose ke permukaan koloni. Beberapa spesies bakteri dapat membentuk koloni yang bersifat *viscous*, ada juga spesies bakteri yang membentuk koloni yang kering, atau berbetuk seperti tepung yang akan terpecah bila tersentuh jarum.

6. Identifikasi bakteri *rhizobium*

Pertumbuhan pada media YEMA+BTB, apabila isolate yang tumbuh berwarna kuning dan biru maka termasuk golongan *rhizobium*, sedangkan pengujian YEMA+CR, apabila koloni berwarna merah muda berarti koloni tersebut adalah koloni *rhizobium*.

7. Indeks Pelarutan Fosfat (IPF)

Pengukuran diameter koloni dan diameter zona bening. Indeks pelarutan fosfat IPF dihitung dengan persamaan Karpagam, and Nagalakshmi (2014) sebagai berikut;

$$IP = \frac{\text{Diameter zona bening} - \text{Diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

Keterangan:

IP :Indeks Pelarutan
 Diameter Zona Bening :Zona bening yang terbentuk setelah terbentuk beberapa hari inokulasi.
 Diameter Koloni : Terbentuk setelah inokulasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Isolasi dan pemurnian

Hasil isolasi dan pemurnian diperoleh 24 isolat (Tabel 2). Berdasarkan pengamatan morfologi secara makroskopis terdapat 12 isolat yang memiliki karakteristik yang berbeda.

Tabel 2. Hasil pengamatan makroskopis koloni bakteri

Kode Isolat	Warna Koloni	Bentuk Koloni	Tepi Koloni	Elevasi	Konsistensi
Isolat 1,7	Kuning	Circular	Entire	Convex	Lunak
Isolat 2,11,13,15,16,17,24	Putih susu	Irregular	Undulate	Flat	Lunak
Isolat 3	Putih susu	Irregular	Undulate	Convex	Lunak
Isolat 4	Putih susu	Circular	Undulate	Flat	Lunak
Isolat 5	Putih susu	Rhizoid	Serrate	Flat	Lunak
Isolat 6,12,20	Putih susu	Irregular	Undulate	Raised	Lunak
Isolat 8,19,21	Putih susu	Circular	Entire	Flat	Lunak
Isolat 9	Putih susu	Circular	Entire	Convex	Lunak
Isolat 10,18	Putih susu	Circular	Entire	Raised	Lunak
Isolat 14	Putih susu	Rhizoid	Lobate	Flat	Lunak
Isolat 22	Putih susu	Circular	Undulate	Raised	Lunak
Isolat 23	Putih susu	Irregular	Entire	Flat	Lunak

Tabel 2 menunjukkan bahwa berdasarkan pengamatan secara morfologi ke 24 isolat koloni yang diamati, diperoleh 2 jenis warna yaitu, putih susu dan kuning. Pengamatan bentuk koloni diperoleh 3 bentuk antara lain, *circular* (bulat), *irregular* (berombak), dan *rhizoid* (berakar). Pada bagian tepi koloni diperoleh 4 bentuk tepian antara lain, *entire* (rata), *undulate* (bergelombang), *serrate* (bergerigi), dan *lobate* (tidak teratur). Elevasi koloni dari hasil pengamatan secara morfologi ke 24 isolat

memiliki elevasi *flat* (datar), *convex* (cembung), dan *raised* (hampir rata). Pada pengamatan konsistensi koloni, ke 24 isolat memiliki konsistensi yang lunak.

Pertumbuhan isolat pada media YEMA

Hasil pengamatan pertumbuhan isolate pada media YEMA (Yeast Ekstrak Monnitol Agar) dengan indikator *Congo Red* (CR) dan *Brom thymol blue* (BTB) dapat dilihat pada Tabel 3

Tabel 3. Pertumbuhan isolat pada media selektif YEMA

No.	Kode Isolate	Media YEMA	
		Indikator CR	Indikator BTB
1	Isolat 4	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
2	Isolat 7	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
3	Isolat 12	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
4	Isolat 13	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
5	Isolat 15	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
6	Isolat 19	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi
7	Isolat 20	Belum teridentifikasi	Belum teridentifikasi

Keterangan :

CR = Congo Red

BTB = Brom thymol blue

Pada Tabel 3. menunjukkan bahwa pertumbuhan semua isolat pada media YEMA tidak memperlihatkan pertumbuhan yang optimal (Belum teridentifikasi) baik dengan indikator *Congo red* maupun *Brom thymol blue*.

Hasil analisis sampel tanah

Hasil analisis kandungan pH, P, C organik, N, KTK tanah pada sampel tanah di Desa Selli Kecamatan Bengo Kabupaten Bone yang di uji di laboratorium Tanah & Konservasi Lingkungan Fakultas Pertanian UMI dapat dilihat pada Table 4.

Tabel 4. Hasil analisis kandungan tanah

Kode sampel	Tanah	Keterangan
pH	7.03	Netral
P ₂ O ₅ (mg/100g)	6.28	Rendah
C-Organik (%)	0.36	Sangat rendah
N (%)	0.182	Rendah
KTK (cmol(+)/kg)	15.625	Tinggi

Sumber :Laboratorium tanah fakultas pertanian UMI

Pada Table 4 hasil analisis tanah menunjukkan bahwa pH 7.03 pada kriteria netral, posfor (P₂O₅) 6.28 dengan kriteria rendah, C Organik 0.36 dengan kriteria sangat rendah, N (nitrogen) 0.182 dengan kriteria

rendah, dan KTK 15.625 dengan kriteria tinggi.

Uji pelarut fosfat

Hasil pengamatan uji pelarutan fosfat pada media *phykovskaya* dengan parameter dengan parameter waktu munculnya zona

bening dan indeks pelarutan fosfat dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 5. Hasil uji indeks pelarutan fosfat dengan media phykovskaya.

Kode Isolat	Munculnya Zona Bening (HST)	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)	Indeks Pelarutan Fosfat (IPF)
Isolat 4	-	-	-	-
Isolat 7	4	1	1,3	0,23
Isolat 12	-	-	-	-
Isolat 13	2	1,3	1,5	0,13
Isolat 15	4	0,5	1,7	0,70
Isolat 19	4	0,4	1,4	0,71
Isolat 20	-	-	-	-

Keterangan :

HST =Hari setelah tanam

IPF =Indeks pelarutan fosfat

Pada Tabel 5 menunjukkan bahwa diantara 7 isolat yang diuji, terdapat 4 isolat yang memiliki potensi melarutkan fosfat yaitu isolat 7, isolat 13, isolat 15, isolat 19, dengan waktu kemunculan zona bening dan indeks pelarutan fosfat yang berbeda. Isolat 13 mulai menampakkan zona bening pada hari ke-2 sedangkan isolat 7, isolat 15 dan isolat 19 menampakkan zona bening pada hari ke-4. Indeks pelarutan fosfat pada isolat 7 dengan rata-rata 0,23, isolat 13 dengan rata-rata 0,13, isolate 15 dengan rata-rata 0,70, isolat 19 dengan rata-rata 0,71.

PEMBAHASAN

Morfologi koloni bakteri

Berdasarkan hasil identifikasi warna koloni pada 24 isolat dari rhizosfer tanaman kacang tunggak, hanya terdapat 2 warna berbeda yaitu, kuning dan putih susu. Menurut Purwaningsih, S. (2004) warna putih susu adalah salah satu ciri isolat bakteri pada cawan. Hasil penelitian Heliati (2003) menyatakan bahwa bakteri koloni rhizobium berbentuk cembung, warna putih dan putih susu dengan tekstur lengket yang merupakan ciri dari bakteri dalam skala laboratorium.

Diamati dari segi bentuk koloni, 24 isolat masing-masing mempunyai 3 bentuk yang berbeda yaitu circular (bulat), irregular (berombak), dan rhizoid (berakar).

Berdasarkan pengamatan 10 isolat berbentuk bulat (circular). Menurut Irfan, M. (2014), karakteristik morfologi rhizobium sp, pada umumnya memiliki bentuk koloni diskrit, biasanya bentuknya bulat datar. Sari et al. (2018) juga menambahkan, berdasarkan pengamatan morfologi koloni pada hasil isolate rhizobium dari tanaman legume yang diteliti menunjukkan hasil yang sama, dan ketika ditumbuhkan pada media cawan ukuran koloni besar, berwarna putih susu berbentuk sirkular.

Tepian koloni adalah kenampakan pada pinggiran koloni, pada bagian tepi koloni hasil pengamatan terdapat beberapa macam tepian yaitu, rata (entire), bergelombang (undulate), tidak beraturan (lobate), dan (serrate) bergerigi. Hasil pengamatan secara makroskopis menunjukkan bahwa terdapat 9 isolat yang memiliki tepian rata (entire) dimana bentuk tepian ini adalah salah satu karakteristik bakteri rhizobium, karakteristik morfologi bakteri *rhizobium sp*, biasanya memiliki tepian yang halus. Selanjutnya Sari et al. (2018) juga menambahkan bahwa bakteri rhizobium memiliki margin entire.

Elevasi koloni bakteri yaitu permukaan koloni yang tumbuh pada suatu media, pada hasil pengamatan morfologi disetiap isolat, ke 24 isolat memiliki 3 macam elevasi antara lain, flat (datar), raised (hampir datar), convex (cembung). Ke 24 isolat yang telah diamati

terdapat 4 isolat yang elevasinya cembung, menurut Heliati (2003) bahwa bakteri koloni rhizobium berbentuk cembung, Sari et al.(2018) juga menambahkan bahwa elevasi koloni bakteri rhizobium bentuknya cembung. Pada pengamatan konsistensi koloni bakteri, semua isolat hasil pengamatan memiliki konsistensi yang lunak.

Analisis tanah

Hasil analisis kandungan tanah yang diperoleh dari laboratorium tanah dan konservasi fakultas pertanian Universitas Muslim Indonesia menunjukkan bahwa pH 7.03 dengan kriteria netral, kandungan posfor 6.28 dengan kriteria rendah, C-Organik 0.36 dengan kriteria sangat rendah, nitrogen 0.182 dengan kriteria rendah, KTK 15.625 dengan kriteria tinggi. Pada hasil analisis tersebut dapat dikatakan bahwa kondisi tanah pada lokasi pengambilan sampel kurang subur atau kurang mendukung pertumbuhan bakteri. Bakteri dapat tumbuh berkembang dengan baik jika nutrisi yang dibutuhkan terpenuhi, bahan organik merupakan sumber energi bagi makro dan mikro organisme tanah. Sumber energi berupa bahan organik yang cukup merupakan salah satu faktor yang menentukan agar mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang.

Uji pelarut fosfat

Uji pelarut fosfat menunjukkan dari 7 isolat terdapat 4 isolat yang membentuk zona bening disekeliling koloni seperti pada (tabel 4). George dkk. (2002) menyatakan terbentuknya zona bening disekitar koloni menunjukkan bahwa isolate tersebut mampu menghasilkan asam organik ekstraseluler yang mampu berikatan dengan ion Ca yang terikat dalam bentuk $Ca_3(PO_4)_2$ pada media *phykovskaya* agar dan membebaskan ion H_2PO_4 sehingga membentuk area yang berwarna lebih jernih daripada area yang memiliki P terikat.

Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat dinyatakan dalam bentuk Indeks Pelarutan Fosfat. Isolat bakteri yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat paling besar yaitu pada isolat 19 dengan indeks pelarut P sebesar 0,71 sekaligus memiliki diameter zona bening terbesar dengan diameter 1,4 mm.

Uji bakteri *rhizobium*

Isolat yang diperoleh dari rhizosfer tanaman kacang tunggak dan diuji pada media YEMA dengan indikator *Congo Red* dan *Brom Thymol Blue*. Setelah dilakukan beberapa kali pengujian pada media YEMA (CR) maupun (BTB) secara berulang-ulang, ke-7 isolat yang diuji tidak mengalami perubahan atau tidak memperlihatkan ciri-ciri adanya bakteri *rhizobium*, hal ini juga dapat dipengaruhi oleh proses pengambilan sampel yang diambil pada sekitaran perakaran tanaman, bukan pada bintil akar tanaman kacang tunggak. Menurut (Madjid, 2009), bahwa mikroba penambat N atau *rhizobium sp* hidup di dalam bintil akar tanaman kacang-kacangan (leguminose).

KESIMPULAN dan SARAN

1. Hasil isolasi diperoleh 24 isolat, berasal dari rhizosfer tanaman kacang tunggak (*Vigna unguiculata L.*). Hasil identifikasi secara makroskopis diperoleh 12 isolat yang memiliki karakteristik morfologi yang berbeda.
2. Hasil pengujian fosfat diperoleh 4 isolat yang mampu melarutkan fosfat dengan indeks pelarutan terendah terlihat pada isolat 13 dengan indeks pelarutan 0,13 sedangkan indeks pelarutan tertinggi terlihat pada isolat 19 dengan indeks pelarutan 0,71.
3. Berdasarkan uji pada media YEMA dengan indikator *Congo Red* maupun *Brom thymol blue* belum ada isolat teridentifikasi sebagai bakteri *Rhizobium*.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfiah, L. N., Zul, D. & Nelvia. 2016. Pengaruh Inokulasi Campuran Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Indigenus Riau terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kedelai (*Glycine max L. Merr*). *Jurnal Agroteknologi* 7(1): 7-14.
- Akhtar, A., Hisamuddin, M.I. Robab, Abbasi, R. Sharf. 2012. Plant Growth Promoting Rhizobacteria : An overview. *Jurnal National. Production Plant Resources* 2(1): 19-31.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Mycrobiology*. 2nd Ed. John Wiley and Sons. New York. 467 p.
- Dobbelaere, S., J. E. Vanderleyden, Y. Okon. 2003. Plant Growth-Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere. *Crit Rev Plant Sci*. 22: 107-149.
- Heliati, I. 2003. Teknik Isolasi Rhizobium Alam dari Tanah. *Prosiding. Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*. Bogor. Hal. 62- 65
- Husen E, Saraswati R. 2003. Effect of IAA producing bacteria on the growth of hotpepper. *J Mikrobiol Indones* 8: 22-26.
- Irfan, M. 2014. Isolasi dan Enumerasi Bakteri Tanah Gambut di Perkebunan Kelapa Sawit PT. Tambang Hijau Kecamatan Tambang Kabupaten Kampar. *Jurnal Agroteknologi*, 5 (1): 1-8.
- Karpagam T., Nagalakshmi P.K. 2014. Isolation and characterization of phosphate solubilizing microbes from agricultural soil. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci*. 3: 601–614.
- Klopper, J.W. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria as biological control agents. p. 255-274. *In F.B. Meeting, Jr. (Ed.). Soil Microbial Ecology, Applications in Agricultural and Environmental Management*. Marcel Dekker, Inc. New York.
- Madjid, A. 2009. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Bahan Ajar Online. Fakultas Pertanian Unsri & Program Studi Ilmu Tanaman, Program Magister (S2), Program Pascasarjana, Universitas Sriwijaya.
- Manalu, M.H.I. 2011. Aplikasi Bakteri Penambat Nitrogen dengan Media Tanah Gambut Terbakar dan Tidak Terbakar pada Semai *Acacia crassicarpa Cunn. Ex Benth*. Skripsi (Tidak dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Rahmawati, N. 2005. Pemanfaatan Biofertilizer pada Pertanian Organik. Fakultas Pertanian. Universitas Sumatera utara. Medan.
- Sari, E., A.N. Flatian, Z.I. Sari, E., Sulaeman. 2018. Isolasi dan Karakterisasi Rhizobium dari *Glycine max L.* dan *Mimosa pudica Linn*. *Jurnal Penelitian Biologi, Botani, Zoologi dan Mikrobiologi*. Vol. 3(2).
- Setiadi, Y. 2003. Arbuscular mycorrhizal inoculum production. Program dan Abstrak Seminar dan Pameran: Teknologi Produksi dan Pemanfaatan Inokulan Endo-Ektomikoriza untuk Pertanian, Perkebunan, dan Kehutanan. Bandung.
- Setiawati, M. R. & Pranoto, E. 2015. Perbandingan Beberapa Bakteri Pelarut Fosfat Eksogen pada Tanah Andisol sebagai areal Pertanaman Teh Dominan di Indonesia. *Jurnal Penelitian Teh dan Kina* 8(2): 158- 164.
- Sundara Rao, W.V.B. and M.K. Sinha. 1963. Phosphate dissolving microorganisms in the soil and rhizosphere. *Indian J. Agric. Sci*. 33: 272-278.
- Sutanto. R. 2002. *Penerapan Pertanian Organik*. Kanisius, Yogyakarta.
- Purwaningsih, S., 2003, Isolasi, Populasi dan Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah dari Taman Nasional Bogani Nani

Wartabone, Sulawesi Utara, Biologi, 3
(1):22- 31.

Purwaningsih, S. 2004. Isolasi, *Enumerasi dan Karakterisasi Bakteri Rhizobium Dari Tanah Kebun Biologi Wamena, Papua*. Jurnal Dipublikasikan. Bidang Mikrobiologi. Pusat Penelitian Biologi. Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI). Bogor.