

Karakterisasi Biokimia *Aeromonas hydrophila* dan Potensinya Sebagai Pemacu Pertumbuhan Bibit Tanaman Melon Emas

I KETUT SIADI, KHAMDAN KHALIMI DAN DEWA NYOMAN NYANA

Program studi Agroekoteknologi Fakultas Pertanian Universitas Udayana
Jl. PB. Sudirman Denpasar Telp. (0361) 222450
E-mail: dewanyana@yahoo.com

ABSTRACT

Biochemical Characterization of *Aeromonas hydrophila* and Its Potential for Growth Stimulator of Golden Melo Seedlings. The results showed that this research got 20 nitrogen fix bacteria isolate, However, Pg2 isolate could increase the growth of golden melo. The treatment with Pg2 isolate significantly increased the golden melo growth. All the plant growth parameters of treated plants were significantly higher than those of un-treated control plants ($P < 0.05$). The leaf chlorophyll content, plant growth rate, and fresh and dry weights of plant were significantly higher than those of un-treated control plants. Isolates identified as *Enterobacter cloacae* PG2 percentage of 98.05% probability.

Key world: *nitrogen fix bacteria, golden melo, enterobacter cloacae*

PENDAHULUAN

Melon emas adalah tanaman yang mampu tumbuh di daerah tropis, mempunyai kulit buah berwarna kuning, tidak berjala seperti melon pada umumnya, rasa dagingnya yang manis dan mempunyai estimasi umur panen yang cepat. Permintaan buah melon eksklusif terutama buah melon emas yang terus mengalami peningkatan, tentunya memberikan imbas positif terhadap permintaan bibit tanaman tersebut. Produksi melon emas saat ini baru memenuhi 20 persen kebutuhan nasional. Melon emas memiliki banyak manfaat kesehatan, diantaranya kandungan vitamin C yang tinggi, ampuh dalam mengobati sariawan, menghaluskan kulit, meningkatkan imunitas tubuh, antioksidan dan penangkal dari serangan radikal bebas yang dapat menyebabkan kanker dan penyakit jantung.

Berdasarkan atas uraian tersebut, salah satu cara untuk meningkatkan hasil tanaman Melon emas serta memaksimalkan pertumbuhan tanaman

secara cepat dan maksimal adalah dengan memanfaatkan bakteri *Aeromonas hydrophila* yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. Pengaruh bakteri tersebut pada tanaman, terutama pada bibit tanaman adalah mampu memberikan keuntungan pada tanaman baik secara langsung maupun tidak langsung. Secara langsung bakteri tersebut mampu menyediakan nitrogen dan fitohormon sebagai pemacu pertumbuhan. Sedangkan pengaruh tidak langsung adalah kemampuan bakteri tersebut dalam menekan aktivitas patogen dengan menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit seperti antibiotik dan siderophore (Klopper et al., 1988; Glick 1995, Wei et al., 1996). Berdasarkan permasalahan di atas maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengkarakterisasi bakteri *A. hydrophila* secara biokimia dan menguji kemampuannya dalam memacu pertumbuhan bibit tanaman melon emas.

BAHAN DAN METODE

Karakterisasi biokimia *A. hydrophila* menggunakan Oxoid Microbact GNB kit

Media biakan Abbhys (Mannitol 20 g, Dipotassium phosphate 0.2 g, Magnesium sulphate 0.2 g, Sodium chloride 0.2 g, Potassium sulphate 0.1 g, Calcium carbonate 5 g, Agar 15 g, aquades 1 liter Final pH (at 25°C) 7.4 ± 0.2) pada cawan Petri dan diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya koloni bakteri yang tumbuh diisolasi dan dimurnikan dengan cara mengambil satu koloni bakteri untuk ditumbuhkan di media miring Abbhys. Karakterisasi biokimia *A. hydrophila* dengan Oxoid Microbact GNB Kit. Prosedur kerja untuk identifikasi bakteri penambat N tersebut adalah : pertama, ambil 3 koloni bakteri penambat N yang berumur 24 jam dan larutkan kedalam 5 ml larutan saline; kedua, tambahkan 4 tetes suspensi bakteri penambat N ke setiap lubang pada Microplate; ketiga, tambahkan 2 tetes Mineral Oil ke lubang-lubang yang berwarna hitam; keempat. Tutup seal dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C; kelima, pindahkan dan tambahkan reagen VPI dan VPII pada sumur no.10/12A, reagen TDA pada sumur no. 12/12A, dan nitrate A dan B apabila ONPG pada sumur no.7 positif; keenam, amati perubahan warna dan catat skor berdasarkan perubahan warna tersebut.

Uji Kemampuan *A. hydrophila* dalam Memacu Pertumbuhan Bibit Melon emas

Invigorasi benih dengan isolate bakteri dilakukan untuk pengolonian isolate bakteri seawal mungkin pada benih, sehingga akan mencegah pengolonian benih oleh mikroba patogen. Benih Melon emas yang akan digunakan untuk perlakuan bakteri penambat N direndam didalam suspensi isolate bakteri selama 30 menit. Setelah perendaman selama 30 menit, selanjutnya ditanam pada tray pembibitan sampai bibit berumur 2 minggu dan suspensi bakteri yang tersisa ditebarkan pada tray pembibitan. Untuk perlakuan kontrol, benih direndam dengan air steril.

Analisis Pertumbuhan dan Total Kandungan Klorofil Daun

Analisis pertumbuhan dilakukan setiap dua minggu sejak tanaman berumur dua minggu. Sebanyak satu tanaman untuk tiap-tiap ulangan secara destruktif diamati luas daun, bobot kering akar, bobot kering batang, bobot kering daun, dan nisbah luas daun terhadap bobot kering daun per tanaman. Komponen bobot kering oven diperoleh setelah memasukkan material ke dalam oven pada suhu 60°C hingga mencapai bobot kering konstan. Penelitian ini akan membuktikan bahwa tanaman Melon emas yang diberi perlakuan isolate bakteri penambat N mempunyai total kandungan klorofil yang sangat tinggi. Total kandungan klorofil (SPAD unit) ditentukan dengan Chlorophyllmeter Minolta -SPAD 502.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri Penambat Nitrogen dengan media Abbhys dan uji kemampuannya dalam meningkatkan jumlah akar dan daun pada bibit melon emas

Hasil isolasi bakteri penambat nitrogen dengan media Abbhys menunjukkan bahwa telah didapatkan 20 isolate bakteri yang dapat menambat nitrogen. Namun demikian, hanya 1 isolate yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman yaitu isolate Pg2 (Tabel 1).

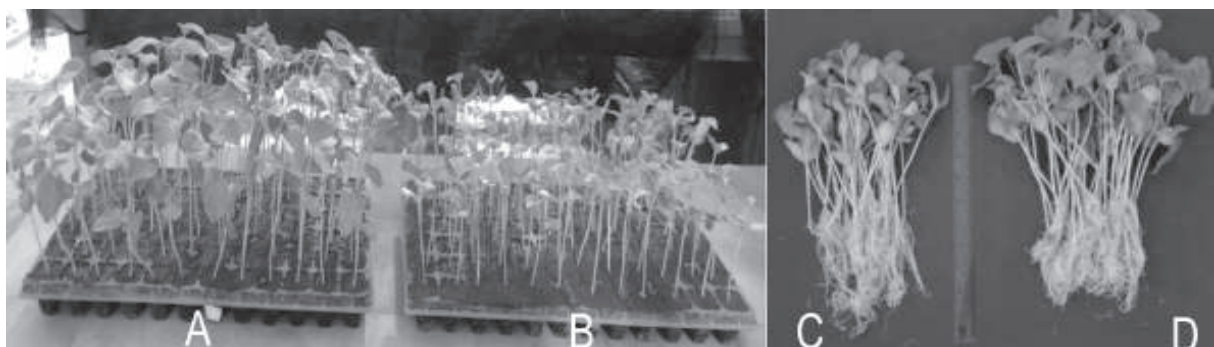
Uji kemampuan isolate Pg2 dalam memacu pertumbuhan tanaman Melon emas di tray pembibitan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan antara pertumbuhan tanaman melon emas yang diberi perlakuan bakteri isolat Pg2 dengan pertumbuhan tanaman melon emas yang tidak diberi perlakuan bakteri Pg2 (Gambar 1).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan *E. cloacae* Pg2 dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melon emas. Perlakuan dengan bakteri pemacu tumbuh tanaman menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih

Tabel 1. Hasil isolasi bakteri penambat N dan uji efektivitasnya dalam memacu tanaman

No	Isolate	Jumlah akar	Jumlah daun	Pemacu pertumbuhan
1	Sd1	6.1	4	-
2	Sd2	6.2	4	-
3	Sd3	7.4	4	-
4	Sn1	5.6	3	-
5	Sn2	6.3	4	-
6	Sn3	6.7	4	-
7	Pg1	6.4	4	-
8	Pg2	8.0	5	+
9	Pg3	7.1	4	-
10	Bl1	5.3	3	-
11	Bl2	6.4	4	-
12	Bl3	6.3	4	-
13	Rn1	6.5	4	-
14	Rn2	7.1	4	-
15	Rn3	5.4	4	-
16	Sp1	6.5	4	-
17	Sp2	6.2	4	-
18	Sp3	6.0	4	-
19	Dp1	5.0	3	-
20	Dp2	5.6	3	-
21	Tanpa bakteri	6.0	4	-

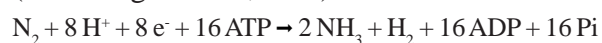


Gambar 1. Profil Pertumbuhan tanaman melon emas yang diberi perlakuan bakteri isolate Pg2
 A dan D : tanaman melon emas dengan perlakuan bakteri isolate Pg2
 B dan C : tanaman kontrol

baik jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Terdapat perbedaan yang nyata antara tanaman melon emas yang diberi perlakuan *E.cloacae* PG2. Pertumbuhan tanaman yang diberikan perlakuan *E.cloacae* PG2 berbeda nyata. Hal ini

dapat dilihat dari variabel kandungan klorofil daun (Tabel 2), laju pertumbuhan tanaman (LPT) (Tabel 3) dan bobot basah dan kering oven tanaman (Tabel 4).

Suriaman (2010) melaporkan bahwa bakteri *E. cloacae* dapat meningkatkan nilai NH_4^+ yang difiksasi dalam media tanpa mineral N. Ketika nitrogen meningkat dalam media, maka dimanfaatkan oleh populasi bakteri tersebut untuk membentuk biomasnya. Peningkatan unsur N oleh bakteri terjadi sebagai berikut: Enzim nitrogenase yang terdiri dari protein Fe dan MoFe mengubah N_2 menjadi NH_4^+ (ion amonium) selanjutnya diabsorpsi menjadi senyawa organik di dalam akar, dan NO_3^- (asam nitrat) pada xilem dan diakumulasi di vakuola akar, tajuk dan organ penyimpanan untuk menjaga keseimbangan kation-anion. Proses reduksi N_2 menjadi NH_4^+ dinamakan proses penambatan atau fiksasi nitrogen (Salisbury dan Ross, 1995). Mekanisme penambatan nitrogen secara biologis dapat digambarkan melalui persamaan di bawah ini. Dua molekul amonia dihasilkan dari satu molekul gas nitrogen dengan menggunakan 16 molekul ATP dan pasokan elektron dan proton (ion hidrogen) (Simanungkalit dkk, 2006).



Penambatan N_2 (molekul nitrogen) oleh mikroba dapat terhambat bila pemberian N berlebih (Saraswati dkk, 2004). Fiksasi nitrogen ini melibatkan penggunaan ATP dan proses reduksi ekuivalen berasal dari metabolisme primer. Semua reaksi yang terjadi dikatalisis oleh *nitrogenase*. Nitrogenase adalah dua protein kompleks. Satu komponen, dinamakan *nitrogenase reduktase* (NR) adalah besi (Fe) berisi protein yang menerima elektron dari ferredoxin, reduktan kuat, dan kemudian mengirimkannya kekomponen lainnya dinamakan *nitrogenase* atau MOFe protein (*Iron-Molybdenum Protein*). Nitrogenase pertama kali menerima elektron dari NR dan proton dari larutan. Nitrogenase mengikat molekul dari molekul nitrogen (melepaskan H_2 pada waktu yang sama), dan kemudian menerima elektron dan proton dari NR, kemudian menambahkannya ke dalam molekul N_2 , yang akhirnya melepaskan dua molekul amoniak NH_3 . Pelepasan molekul hidrogen H_2 , merupakan bagian dari proses fiksasi nitrogen. Cukup banyak sistem fiksasi nitrogen berisi enzim hydrogenase, yang mendapatkan

Tabel 2. Pengaruh bakteri isolate Pg2 terhadap Kandungan Klorofil Daun dan Jumlah Daun

Perlakuan	Kandungan klorofil daun (SPAD Unit)	Jumlah Daun
Kontrol	36.43 a	6.63 a
Isolate Pg2	43.21 b	8.60 a

Keterangan: nilai yang diikuti huruf yang sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan ($P < 0,5$)

Tabel 3. Pengaruh bakteri isolate Pg2 terhadap Laju pertumbuhan tanaman melon emas

Perlakuan	LPT (g.hari ⁻¹) 3MST	LPT (g.hari ⁻¹) 4MST	LPT (g.hari ⁻¹) 5MST
Kontrol	0.12 a	0.05 a	0.10 a
Pg2	0.24 b	0.11 b	0.28 b

Keterangan: nilai yang diikuti huruf yang sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan ($P < 0,5$)

Tabel 4. Pengaruh bakteri isolate Pg2 terhadap bobot basah dan kering tanaman melon emas

Perlakuan	2 MST		3 MST		4 MST		5 MST	
	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)
Kontrol	1.62 a	0.05 a	5.51 a	0.90 a	16.98 a	1.25 a	18.85 a	1.96 a
Pg2	3.01 b	0.13 b	14.30 b	1.82 b	26.97 b	2.62 b	29.63 b	4.61 b

Keterangan: nilai yang diikuti huruf yang sama pada masing-masing perlakuan pada kolom yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji Duncan ($P < 0,5$)

elektron dari molekul hidrogen dan mentransfernya kembali ke dalam ferredoxin, kemudian menyimpan beberapa energi metabolik yang hilang selama reduksi nitrogen (Dewi, 2007). Glukosa sebagai sumber karbon utama diserap melalui proses transfer aktif yang kemudian dimetabolisme untuk menghasilkan energi dan mensintesis bahan pembentuk sel, serta sintesis metabolit (Thontowi dkk, 2007).

Bakteri isolate Pg2 yang terkolonisasi pada tanaman melon emas mampu meningkatkan kandungan klorofil sehingga fotosintesis berlangsung lebih optimal. Hal ini disebabkan oleh ACC-deaminase yang dihasilkan oleh bakteri isolate Pg2 mampu memperlambat proses degradasi klorofil, sehingga kandungan klorofil daun meningkat pada tanaman yang diberi perlakuan bakteri isolate Pg2 dibandingkan dengan kontrol. Perlakuan bakteri isolate Pg2 juga mampu meningkatkan jumlah daun. Peningkatan jumlah daun pada perlakuan bakteri isolate Pg2 sebesar 29.71% jika dibandingkan dengan kontrol.

Pertumbuhan tanaman melon emas ditingkatkan secara tidak langsung karena isolate Pg2 mampu menambat N dan menghasilkan acetoin. Hal ini tercermin pada nilai laju pertumbuhan tanaman yang lebih tinggi dibandingkan dengan laju pertumbuhan pada perlakuan kontrol (Tabel 3). Laju pertumbuhan tanaman yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan

perlakuan kontrol didukung oleh tingginya bobot basah dan kering tanaman (Tabel 4). Hasil penelitian ini sejalan dengan hasil penelitian yang dikemukakan oleh Mansoor dkk. (2007) yang melaporkan bahwa tanaman mungbean yang diberi perlakuan rizobakteri *P. aeruginosa* memiliki karakter tinggi tanaman yang lebih baik dan memiliki bobot tajuk yang lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman tanpa perlakuan rizobakteri *P. aeruginosa*. Murphy dkk. (2000) melaporkan bahwa perlakuan tanaman tomat dengan rizobakteri menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih cepat dan lebih besar.

Hasil analisis menggunakan Software Microbact Identification menunjukkan bahwa bakteri isolate Pg2 teridentifikasi sebagai *Enterobacter cloacae* dengan persentase probability 98.05% (Tabel 5).

Enterobacter cloacae Pg2 menunjukkan reaksi positif pada Decarboxylase lysine, Decarboxylase ornitin, Pemanfaatan Glucose, Pemanfaatan manitol, Pemanfaatan Xylose, Hidrolisis ONPG, Hidrolisis Urea, Produksi Acetoin, Pemanfaatan Citrate, Mencairkan Gelatin, Pemanfaatan Malonat, Pemanfaatan Sorbitol, Pemanfaatan arabinose, Pemanfaatan ramnose, Pemanfaatan Sucrose, Pemanfaatan Lactose, Pemanfaatan arabinose, Pemanfaatan rafinose, Pemanfaatan Salicin, Dihidrolase Arginine, dan dapat mereduksi Nitrate.

Tabel 5. Hasil Identifikasi isolate Pg2 dengan Oxoid Microbact GNB Kit

Karakterisasi biokimia	<i>Enterobacter cloacae</i> Pg2
Decarboxylase lysine	+
Decarboxylase ornitin	+
Produksi H ₂ S	-
Pemanfaatan Glucose	+
Pemanfaatan manitol	+
Pemanfaatan Xylose	+
Hidrolisis ONPG	+
Produksi Indole	-
Hidrolisis Urea	+
Produksi Acetoin	+
Pemanfaatan Citrate	+
Produksi TDA	-
Mencairkan Gelatin	+
Pemanfaatan Malonat	+
Pemanfaatan Inositol	-
Pemanfaatan Sorbitol	+
Pemanfaatan ramnose	+
Pemanfaatan Sucrose	+
Pemanfaatan Lactose	+
Pemanfaatan arabinose	+
Pemanfaatan adonitol	-
Pemanfaatan rafinose	+
Pemanfaatan Salicin	+
Dihidrolase Arginine	+
Reduksi Nitrate	+

SIMPULAN

Hasil penelitian ini menyimpulkan bahwa :

1. Penelitian ini telah mendapatkan 20 isolate bakteri yang dapat menambat nitrogen. Namun demikian, hanya 1 isolate yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman yaitu isolate Pg2.
2. Isolate Pg2 mampu menghasilkan pertumbuhan tanaman yang lebih baik jika dibandingkan dengan perlakuan kontrol. Hal ini dapat dilihat dari variabel kandungan

klorofil daun, laju pertumbuhan tanaman, dan bobot basah dan kering oven tanaman yang berbeda nyata dengan perlakuan kontrol.

3. Isolate Pg2 teridentifikasi sebagai *Enterobacter cloacae* persentase probability 98.05%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih sedalam-dalamnya terhadap Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat yang telah memberikan dana penelitian dengan surat perjanjian kontrak penelitian Nomor: DIPA- 023.04.2.415253/2013, tanggal 5 Desember 2012, MAK 4078.024.011.525119, tahun anggaran 2013.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2012. Buah Lokal. http://trial.buahlokal.com/ex_pro.php?id=3002. 5 September 2012.
- Anneahira. 2012. Seputar Tanaman Hortikultura. <http://www.anneahira.com/tanaman-hortikultura.htm>. 5 September 2012.
- Balitbangda. Usaha Budidaya Melon emas. 2012. <http://litbang.bantenprov.go.id/2012/usaha-budidaya-golden-melon/>. 5 September 2012.
- Dwijoseputro, D, 1985, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Djambatan, Malang.
- Glick, B.R. 1995. *The Enhancement of Plant Growth by Freelifving Bacteria*. *Can J Microbiol* 41: 109–117.
- Fernando D, Nakkeeran, Zhang Yilan. 2005. biosynthesis of antibiotics by PGPR and its relation in biocontrol of plant diseases.dalam: *Z.A. Siddiqui (ed.), PGPR: Biocontrol and Biofertilization* 67-109. *Springer, Dordrecht, The Netherlands*.
- Guntoro. 2004. *Cara budidaya Melon emas. Produksi dan Pemasaran Mekarsari*.
- Han. H.S., Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant

- status, photosynthesis, Mineral uptake and growth of lettuce under soil salinity. *Res. J. of Agric. and Biol. Sci.* 1(3): 210-215
- Hutabarat, R. 2010. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobakteria). *Buletin Pertanian*, 3 September 2012.
- Kloepper, J.W.; J. Leong; M. Teintze; and M.N. Schroth. 1988. *Enhanced Plant Growth by Siderophore Produced by Plant Growth-Promoting Rhizobacteria*. Nature. London.
- Kishore GK, Pande S, Podile AR. 2005. Phylloplane bacteria increase seedling emergence, growth and yield of field-grown groundnut (*Arachis hypogaea* L.). *Applied Microbiology* 40: 260-268.
- Macdonald, 1989. An overview of crop inoculation, p. 1-9. In R.Campbell and R.M. Macdonald (Eds.). *Microbial Inoculation of Crop Plants*. IRL Press, Oxford.
- Salisbury, B Frank., dan Ross, Cleon W., 1992, *Fisiologi Tumbuhan jilid 2*, ITB: Bandung.
- Wikipedia. 2012. Hortikultura. <<http://id.wikipedia.org/wiki/Hortikultura>>. 5 September 2012.
- Wei G, Kloepper JW, Tuzun S (1996). Induced Systemic Resistance to Cucumber Diseases and Increased Plant Growth by Plant Growth-Promoting Rhizobakteria Under Field Conditions. *Phytopathology*. 86(2): 221-224.