

LAPORAN PENELITIAN

Judul Penelitian :

**Uji Potensi Mikroba dari Rockwool Hidroponik
Tanaman Sawi (Brassica rapa L.) sebagai pupuk
Biofertilizer Tanaman Hidroponik**



umsurabaya
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

**Fakultas
Ilmu Kesehatan**

Oleh :

**Vella Rohmayani, S.Pd., M.Si (0720059202)
Anindita Riesti Retno Arimurti, S.Si., M.Si. (0705048903)
Nurhidayatullah Romadhon S.Pd., M.Si (-)
Ira Ayu Ashari (20200667012)
Anis Lailatul Fitriyah (20200667013)**

**FAKULTAS ILMU KESEHATAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA**

Jl. Sutorejo No. 59 Surabaya 60113

Telp. 031-3811966

<http://www.um-surabaya.ac.id>


Tahun 2021

HALAMAN PENGESAHAN

- Judul Penelitian : Uji Potensi Mikroba dari Rockwoll Hidroponik Tanaman Sawi (Brassica rapa L.) sebagai pupuk Biofertilizer Tanaman Hidroponik
- Skema :
- Jumlah Dana : Rp10.115.000
- Ketua Peneliti :
 - a. Nama Lengkap : Vella Rohmayani, S.Pd.,M.Si
 - b. NIDN : 0720059202
 - c. Jabatan Fungsional : Asisten Ahli
 - d. Program Study : D4 Teknologi Laboratorium Medis
 - e. No. HP : 082337821057
 - f. Alamat Email : vella@um-surabaya.ac.id
- Anggota Peneliti (1) :
 - a. Nama Lengkap : Anindita Riesti Retno Arimurti, S.Si., M.Si.
 - b. NIDN : 0705048903
- Anggota Peneliti (2) :
 - a. Nama Lengkap : Nurhidayatullah Romadhon S.Pd., M.Si
 - b. NIDN : -
- Anggota Mahasiswa (1) :
 - a. Nama : Ira Ayu Ashari
 - b. NIM : 20200667012
 - c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya
- Anggota Mahasiswa (2) :
 - a. Nama : Anis Lailatul Fitriyah
 - b. NIM : 20200667013
 - c. Perguruan Tinggi : Universitas Muhammadiyah Surabaya

Mengetahui,
 Dekan FTK UMSurabaya

Dr. Nur Mukarromah, SKM.,M.Kes
 NIDN.0713067202

Surabaya,
 Ketua Penelitian

Vella Rohmayani, S.Pd.,M.Si
 NIDN.0720059202

Menyetujui
 Ketua LPPM UMSurabaya

Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
 NIDN. 0730016501

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR GAMBAR	v
DAFTAR LAMPIRAN	vi
ABSTRAK	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Sistem Hidroponik	6
2.1.1 Sistem Hidroponik	6
2.1.2 Cara Penanaman pada Sistem Hidroponik.....	7
2.1.3 Analisis Pertumbuhan Tanaman Setiap Hari	8
2.1.4 Nutrisi pada Pertumbuhan	9
2.1.5 Bakteri potensial pada Sistem Hidroponik	10
2.2 Teknik Sampling.....	11
2.3 Isolasi Bakteri	11
2.4 Media Kultur Bakteri	12
2.5 Sterilisasi Media dan Peralatan	13
2.6 Identifikasi Bakteri	14
2.6.1 Karakteristik Makroskopis	14
2.6.2 Karakteristik Mikroskopis	15
2.6.3 Uji Biokimia	16
2.7 Teknik Perhitungan Bakteri	18
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	20
3.1 Tujuan Penelitian	20
3.2 Manfaat Penelitian	20
BAB IV METODE PENELITIAN	21
4.1 Waktu dan Tempat.....	21
4.2 Alat dan Bahan	21
4.2.1 Alat.....	21
4.2.2 Bahan.....	21
4.3 Cara Kerja	21
4.3.1 Isolasi Dengan Metode Pengenceran Bertingkat	21
4.3.2 Perhitungan Bakteri dan Karakterisasi Bakteri (Makroskopis) 22	
4.3.3 Pemurnian Bakteri.....	23
4.3.4 Pewarnaan Bakteri	24
4.3.5 Uji Biokimia.....	25

4.3.5.1 Uji Oksidase	25
4.3.5.2 Uji Katalase	25
4.3.5.3 Uji MR-VP	25
4.3.5.4 Uji Simmons Sitrat	26
4.3.5.5 Uji Fermentasi Gula,Produksi H ₂ S, dan Gas	26
4.3.5.6 Uji Motilitas	26
4.3.6 Identifikasi Bakteri (Berdasarkan Hasil Uji Biokimia)	26
4.3.7 Uji Kemampuan Bakteri dalam Memfiksasi Nitrogen	27
4.3.8 Uji Kemampuan Bakteri dalam Produksi IAA	27
BAB V HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	28
5.1 Isolasi dan Kuantifikasi Bakteri (TPC)	28
5.2 Pengamatan Makroskopis Bakteri	32
5.3 Pengamatan Mikroskopis Bakteri	34
5.4 Uji Biokimia dan Identifikasi Bakteri	41
5.5 Uji Potensi Kemampuan Fiksasi Nitrogen	46
5.6 Uji Potensi Produksi Indole Actic Acid (IAA)	48
BAB VI RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	52
6.1 Rencana Jangka Pendek	52
6.2 Rencana Jangka panjang	52
BAB VII PENUTUP	53
7.1 Kesimpulan	53
7.2 Saran	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN	58

ABSTRAK

Rockwool merupakan media tanam yang banyak digunakan oleh para petani hidroponik. Sistem hidroponik mengandung nutrisi dalam jumlah tinggi untuk menyediakan lingkungan yang ideal bagi mikroorganisme untuk tumbuh. Mikroorganisme dapat membantu memacu pertumbuhan tanaman melalui banyak mekanisme seperti fiksasi N₂, stres tanaman pengendalian, ekstraksi unsur hara dari tanah, fungsi anti patogen, produksi berbagai jenis tanaman hormon, dan pengendalian biologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi bakteri pada hidroponik rockwool sawi lapangan (*Brassica rapa L.*) untuk fiksasi nitrogen dan IAA (Indole Acetic Acid) produksi. Penelitian diawali dengan mengisolasi Bakteri Rockwool Hidroponik dari *Brassica rapa L.*, dilanjutkan dengan mengidentifikasi dan menumbuhkan isolat pada media NA, NB, dan LB selama 48 jam untuk menentukan spesiesnya. Setelah 48 jam, dilakukan penghitungan jumlah bakteri dan karakteristik koloni. Kemudian koloni bakteri ditemukan dimurnikan pada media NA. Setelah mengetahui spesiesnya, dilakukan uji potensi fiksasi Nitrogen menggunakan media NFBB selama enam hari. Kemudian diuji potensi produksi IAA dengan menggunakan media LB satu minggu. Hasil penelitian menunjukkan 11 (sebelas) isolat bakteri tidak mampu memfiksasi Nitrogen namun memiliki kemampuan kemampuan memproduksi hormon IAA, dengan konsentrasi IAA berkisar antara 4,09 hingga 21,99 ppm.

Kata Kunci: metode ekstraksi DNA; DNA tinja; analisis molekuler; amplifikasi PCR; rusa tutul

BAB 1

PENDAHULUAN

N

1.1 Latar Belakang

Hidroponik merupakan system budidaya atau bercocok tanam tanpa menggunakan media tanah, tetapi menggunakan larutan mineral bernutrisi atau bahan lainnya yang mengandung unsur hara (Izzuddin, 2016). Pada system ini pemberian air dan nutrisi memungkinkan untuk dilakukan dalam waktu yang bersamaan (Susila, 2013). Adapun keunggulan dari sitem hidroponik adalah dapat dijadikan sebagai solusi atau alternatif bagi masyarakat yang ingin bercocok tanam, tetapi memiliki lahan yang sempit atau terbatas (Roidah, 2014; Amri dkk., 2017).

System hidroponik sangatlah baik digunakan untuk budidaya tanaman sayuran karena tanaman yang dihasilkan lebih steril dan kandungan gizinya lebih tinggi. Memngingat pada system hidroponik hanya menggunakan pupuk organik dan tanpa peptisida. Selain itu kebutuhan air yang diperlukan juga tidak terlalu banyak karena air yang dipakai sebagai media dapat terus bersirkulasi (Guru pendidikan.co.id, 2021).

Hama yang menyerang tanaman yang ditanam pada system hiroponik juga lebih sedikit, karena sebagian kontaminasi hama pada tanaman biasanya berasal dari tanah. Tanaman hidroponik dapat tumbuh dengan cepat jika pemantauan dan perawatannya dilakukan secara intensif, hasil panennya juga bisa dinikmati setiap waktu karena tidak bergantung pada kondisi musim, sehingga dapat di atur sesuai dengan kebutuhan pasar (Sastro dan Rokhmah, 2016). Selain itu proses panennya juga relatif lebih mudah.

Ketersediaan udara dan air pada hidroponik dapat dimaksimalkan pada zona akar dengan adanya matriks padat seperti *rockwool*. *Rockwool* menjadi salah satu media tanam yang banyak digunakan oleh para petani

hidroponik. Hal yang menjadikan media tanam ini banyak digunakan oleh para petani, karena *rockwool* ramah lingkungan, tidak mengandung parasite penyebab penyakit, mampu menampung air lebih banyak, yaitu kurang lebih sebanyak 14 kali lipat dibandingkan dengan kapasitas tampung tanah, mampu meminimalisir penggunaan desinfektan, serta mampu mengoptimalkan peran pupuk.

Pada dasarnya *rockwool* hanya memiliki kandungan bakteri yang sangat sedikit. Namun saat sudah dijadikan sebagai media tanaman, maka akan tumbuh kolonisasi bakteri dengan cepat pada permukaannya, baik berupa bakteri maupun jamur (Carlile dan Wilson 1991). Berdasarkan hasil penelitian terdahulu disebutkan bahwa populasi bakteri heterotrofik mencapai 10⁵-10⁶ cfu/mL setelah larutan nutrisi yang mengalir selama 20 jam setelah penanaman tomat (Berkelmann et al., 1994). Jumlah bakteri pada akar tomat muda dapat mencapai mencapai 10¹⁰ cfu/g akar segar (Waechter-Kristensen et al., 1994). Jumlah jamur biasanya lebih rendah jika dibandingkan dengan jumlah bakteri, dan cenderung bervariasi bergantung pada kondisi cuaca (Waechter-Kristensen et al., 1994). Terjadinya kontaminasi mikroorganisme dalam sistem hidroponik dapat berasal dari bahan tanaman, media tanam, serangga, pekerja di rumah kaca dan air irigasi (Postma et al., 2008).

Sistem hidroponik memiliki jumlah unsur hara yang lebih tinggi, mengingat pada system ini tersedia lingkungan yang sangat ideal bagi pertumbuhan bakteri. Karena suhu air dan tingkat pH dapat dikontrol atau dikondisikan sesuai dengan kebutuhan untuk pertumbuhan dan kelangsungan hidup mikroorganisme. kebanyakan bakteri dalam system hidroponik merupakan jenis bakteri yang bermanfaat untuk melindungi tanaman karena mampu menekan pertumbuhan bakteri pathogen, serta mampu membantu proses pertumbuhan tanaman, walaupun ada beberapa jenis bakteri seperti *Agrobacteriu tumefaciens*, *Xylella fastidiosa* dan *Pseudomonas syringae* yang memiliki sifat parasite atau pathogen pada tanaman (Weller T., 2005; Chen, LL., 2006).

Dalam penelitian lain menyebutkan bahwa mikroorganisme dalam

system media hidroponik dapat berperan meningkatkan nitrifikasi (Zou et al., 2016). Penambahan promotor pertumbuhan tanaman dapat meningkatkan kinerja tanaman, contohnya seperti *Azospirillum brasilense* dan *Bacillus* spp. (Bartelme et al., 2018).

Bakteri yang bisa membantu pemacu pertumbuhan tanaman sangat diperlukan untuk mendukung pertumbuhan tanaman dengan tujuan untuk efisiensi penggunaan pupuk, serta sebagai agen biologi alami yang dapat membantu melawan patogen atau parasite yang banyak menginfeksi tanaman hidroponik. Sehingga diharapkan dapat meningkatkan hasil panen tanaman hidroponik. Adapun bakteri dapat membantu mendorong pertumbuhan dan meningkatkan hasil panen tanaman melalui mekanisme berikut, yaitu: (i) fiksasi nitrogen, (ii) fasilitasi akses ke nutrisi, (iii) stimulasi pertumbuhan tanaman langsung dan (iv) produksi senyawa organik (Calvo et al., 2014).

Kemampuan ini dapat mengurangi jumlah nutrisi yang diperlukan untuk mempertahankan hasil tanaman optimal (Dasgan et al., 2012). Berdasarkan hasil penelitian menyebutkan bahwa bakteri yang mampu memacu pertumbuhan tanaman telah terbukti meningkatkan penyerapan nutrisi dalam kondisi tertentu, serta dapat membantu mengurangi penggunaan pupuk (Ruzzi dan Aroca., 2015).

Sejumlah bakteri yang telah diuji kemampuannya dalam mencegah patogen tanaman adalah *Pseudomonas* spp., *Bacillus* spp. *Enterobacter* spp., *Streptomyces* spp., *Gliocladium* spp. Dan *Trichoderma* spp. (Lee et al., 2015). Namun demikian manfaat yang diberikan oleh bakteri tersebut bergantung pada kemampuannya dalam berkolonisasi pada akar tanaman, bertahan hidup dan berkembangbiak pada durasi terhadap bakteri lain (Compant et al., 2005).

Berdasarkan penjelasan tersebut, penelitian mengenai identifikasi keragaman bakteri yang mampu berkoloni dan berasosiasi dengan tanaman hidropnik penting dilakukan sebagai upaya deteksi peranan bakteri potensial untuk memacu pertumbuhan tanaman hidroponik. Walaupun penelitian mengenai isolasi bakteri pada system hidroponik sudah pernah dilakukan sebelumnya. Namun penelitian ingin menguji apakah memang jenis bakteri tersebut ada pada semua jenis tanaman hidroponik, serta ingin mengetahui adanya jenis-jenis bakteri baru yang belum didapatkan pada hasil penelitian sebelumnya.

Adapun jenis tanaman yang biasanya sering ditanam menggunakan system hidroponik adalah sayuran seperti bayam, sawi, kangkung dan lain sebagainya. Pada penelitian ini jenis tanaman yang digunakan adalah tanaman sawi (*Brassica rapa L.*). Adapun tujuan dilakukannya penelitian ini adalah ingin mengetahui jenis bakteri, jumlah total bakteri, karakter makroskopis dan mikroskopis koloni bakteri, kemampuan bakteri dalam memfiksasi nitrogen, kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA, serta mengetahui jenis bakteri apa saja yang berpotensi sebagai Biofertilizer pada Rockwool Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa L.*).

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana peran bakteri *Rockwool* terhadap hidroponik tanaman sawi?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jenis isolate bakteri yang terdapat pada *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa L.*)

2. Mengetahui jumlah total bakteri (CFU/mL) pada *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.).
3. Mengetahui karakter makroskopis dan mikroskopis koloni bakteri yang sudah murni dari hasil isolasi *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassicarapa* L.).
4. Mengidentifikasi genus bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi berdasarkan hasil uji biokimia.
5. Mengetahui kemampuan bakteri dalam memfiksasi nitrogen.
6. Mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA.
7. Mengetahui Bakteri Apa saja yang berpotensi sebagai Bakteri Pendukung dalam Biofertilizer

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Sistem Hidroponik

Hidroponik adalah metode menanam tanaman dan sayuran tertentu tanpa tanah, yakni tanaman yang ditanam dalam larutan yang mengandung nutrisi dalam pelarut air (Ghatage, *et.al.*, 2019). Dalam sistem hidroponik, tanaman ditempatkan dalam larutan yang terdiri dari nutrisi yang terlarut pada air yang bertentangan dengan tanah. Dalam kebanyakan sistem hidroponik secara konvensional, parameter seperti *electrical conductivity* dan pH larutan air telah diatur ke dalam sistem yang telah diatur sebelumnya. Prosesnya sebagai berikut: buat larutan nutrisi berdasarkan tanaman yang sedang tumbuh, berikan larutan tersebut ke dalam air, dan tempatkan tanaman yang berkecambah ke dalam air sedemikian rupa sehingga akar yang terbuka menyentuh larutan tersebut. Jika parameter dipertahankan di dalam tingkat optimal, tanaman harus tumbuh lebih cepat dan lebih sehat daripada pertumbuhan alami (Douglas and James, 1975).

Karya yang paling awal diterbitkan tentang pertumbuhan tanaman terestrial tanpa tanah adalah buku *1627 Sylva Sylvarum* oleh Francis Bacon, dicetak setahun setelah kematiannya. Budaya teknik penanaman dalam air menjadi penelitian yang populer setelah itu. Pada 1699, John Woodward menerbitkan percobaan kultur airnya dengan spearmint. Dia menemukan bahwa tanaman di sumber air yang kurang murni tumbuh lebih baik daripada tanaman di air suling (*Encyclopaedia Britannica American Botanist*).

2.1.1 Cara Penanaman pada Sistem Hidroponik

Terdapat beberapa cara dalam melakukan penanaman pada sistem hidroponik, diantaranya yakni (Roidah, 2014):

- 1) Pembibitan. Pilihlah bibit yang berkualitas, supaya mutu buah atau sayur yang dihasilkan cukup optimal.
- 2) Penyemaian sistem hidroponik bisa menggunakan bak dari kayu atau plastik. Bak tersebut berisi campuran pasir yang sudah diayak halus, sekam

bakar, kompos dan pupuk kandang dengan perbandingan 1 : 1: 1 : 1. Semua bahan tersebut dicampur rata dan dimasukkan ke dalam bak dengan ketinggian sekitar

7 cm. Masukkan biji tanaman dengan jarak 1 x 1,5 cm. Tutup dengan tisu/karung/kain yang telah dibasahi supaya kondisi tetap lembab. Kemudian lakukan penyiraman hanya pada saat media tanam mulai kelihatan kering.

Setelah itu buka penutup setelah biji berubah menjadi kecambah. Kemudian pindahkan ke tempat penanaman yang lebih besar bila pada bibit telah tumbuh minimal 2 lembar daun.

- 3) Persiapan Media Tanam. Syarat media tanam untuk hidroponik adalah mampu menyerap dan menghantarkan air, tidak mudah busuk, tidak mempengaruhi pH, steril, dan lain-lain. Media tanam yang bias digunakan dapat berupa gambut, sabut kelapa, sekam bakar, rockwool (serabut bebatuan). Kemudian isi kantung plastik, polybag, pot plastik, atau bantalan plastic dengan media tanam yang sudah disiapkan.
- 4) Pembuatan Green House. Bercocok tanam secara hidroponik mutlak membutuhkan green house. Green house bias dibuat dari rangka besi, rangka bamboo, atau rangka kayu. Green house ini bias digunakan untuk menyimpantanaman pada saat tahap persemaian ataupun pada saat sudah dipindah ke media tanam yang lebih besar.
- 5) Pupuk. Media tanam pada system hidroponik hanya berfungsi sebagai pegangan akar dan perantara larutan nutrisi, untuk mencukupi kebutuhan unsurhara makro dan mikro perlu pemupukan dalam bentuk larutan yang disiramkan ke media tanam. Kebutuhan pupuk pada system hidroponik sama dengan kebutuhan pupuk pada penanaman sistem konvensional.
- 6) Perawatan Tanaman. Perawatan pada sistem hidroponik pada dasarnya tidak berbeda jauh dengan perawatan pada penanaman system konvensional seperti pemangkasan, pembersihan gulma, penyemprotan pupuk dan daun serta lain –lain.

2.1.2 Media Tanam *Rockwool* pada Sistem Hidroponik

Terdapat berbagai macam media tanam yang dapat digunakan pada hidroponik, salah satunya yakni media tanam *rockwool*. Media tanam *rockwool* digunakan oleh banyak petani di negara kita ini. Hal ini karena karakteristik media tanam *rockwool* sangat halus, bentuknya bisa dikatakan hampir menyerupai busa jika dilihat secara sekilas, serta mempunyai berat yang sangat ringan sehingga mudah saat digunakan. Menurut Ghatage, *et.al.*, (2019), *rockwool* atau yang dapat disebut Wol mineral adalah segala bahan berserat yang dibentuk dengan cara memintal atau menggambar bahan

mineral atau batuyang meleleh seperti terak dan keramik. Aplikasi *rockwool* termasuk isolasi termal (baik isolasi struktural dan isolasi pipa, meskipun tidak tahan api), filtrasi, kedap suara, dan media pertumbuhan hidroponik.

Produk *rockwool* dapat direkayasa untuk menampung air dan udara dalam

jumlah besar yang membantu pertumbuhan akar dan penyerapan nutrisi dalam hidroponik; sifat berseratnya juga menyediakan struktur mekanis yang baik untuk menjaga kestabilan pabrik. pH alami yang tinggi dari *rockwool* membuat mereka awalnya tidak cocok untuk pertumbuhan tanaman dan membutuhkan "pengkondisian" untuk menghasilkan wol dengan pH yang stabil dan sesuai (Ghatage, *et.al.*, 2019).

2.1.3 Analisis Pertumbuhan Tanaman Setiap Hari

Berdasarkan penelitian Ghatage *et al.* (2019), dapat dilihat beberapa tahapan dalam pertumbuhan tanaman selada hijau pada sistem hidroponik sebagai berikut:

A. Hari ke-1



Gambar 1. Memasukkan Biji kedalam *Rockwool*

Pada hari pertama benih tanaman yang dibutuhkan (contohnya selada hijau) dimasukkan ke dalam rockwool. Fungsi utama rockwool adalah untuk memberikan dukungan mekanis pada benih penyiraman dilakukan bersama dengan campuran larutan nutrisi sekali dalam sehari. Sebelum mengambil tanaman pada sistem, prosedur yang sama dilanjutkan sampai benih mulai berkecambah, itu akan memakan waktu sekitar satu minggu.

B. Hari ke-3



Gambar 2. Biji Mengalami Perkecambahan

Gambar di atas menunjukkan tahap di mana mulai berkecambah diperlukan waktu satu hari untuk mulai berkecambah.



Gambar 3. Pertumbuhan Tanaman

Ini akan memakan waktu sekitar satu minggu untuk menumbuhkan tanaman stabil penuh yang dimasukkan ke dalam sistem untuk pertumbuhan lebih lanjut ini akan memastikan bahwa rockwool memegang akar tanaman dengan cukup kekuatan.

C. Hari ke-15

Karena siklus hidup total untuk menanam tanaman selada hijau adalah sekitar 40 hari. Dengan sistem hidroponik yang sekarang ini, kita akan mendapatkan pabrik selada dewasa yang efisien penuh, dalam waktu 15 hari hingga kita harus melanjutkan dengan prosedur yang sama yaitu sistem diperbolehkan menyelesaikan revolusi penuh dalam waktu yang ditentukan dengan jumlah siklus per hari yang ditentukan. Selanjutnya hari ke- 20 sampai hari ke-30 tanaman mulai tumbuh dengan sempurna.

2.1.4 Nutrisi pada Pertumbuhan

Pada pertumbuhan tanaman terdapat beberapa nutrisi yang dibutuhkan, salah satunya adalah nitrogen dimana nitrogen merupakan unsur penting dalam pembentukan daun. Nitrogen membantu memperbaiki pertumbuhan vegetatif tanaman, pertumbuhan tanaman yang kekurangan unsur nitrogen akan berdampak kerdil pada penampakan tanaman (Syekhfani, 2009). Selain unsur nitrogen, tanaman juga membutuhkan unsur hara esensial lainnya seperti fosfor dan kalium. Hasil penelitian Indrasari dan Syukur (2006), menunjukkan juga bahwa pemberian unsur hara mikro meningkatkan bobot basah tanaman menjadi lebih tinggi. Kalium berperan dalam aktivator dari berbagai enzim yang penting dalam reaksi fotosintesis dan respirasi, sehingga dapat mengatur serta memelihara potensial osmotik dan pengambilan air yang mempunyai pengaruh positif terhadap penutupan dan pembukaan stomata. Fosfor menyebabkan metabolisme berjalan baik dan lancar yang mengakibatkan pembelahan sel, pembesaran sel dan diferensiasi sel berjalan lancar (Surtinah, 2009).

2.1.5 Bakteri potensial pada Sistem Hidroponik

Meskipun sistem hidroponik dapat menumbuhkan tanaman didalam ruangan, pathogen tetap menjadi ancaman bagi pertumbuhan tanaman. Banyak pathogen yang dapat tumbuh dalam kondisi hidroponik yang tinggi akan nutrisi, dimana pengolahan air limbah dan sumber daya tidak terbarukan yang masuk ke hidroponik menjadi masalah. Selain itu, penyakit yang terbawa air dapat mencemari dan menyebar melalui sistem watertubing. Spesies *Colletotrichum*, *Fusarium*, *Phytophthora*, *Pythium*, dan *Phizoctonia* adalah patogen tanaman yang umum terdeteksi dalam sistem hidroponik (Li et al., 2014).

Disamping adanya ancaman dari beberapa bakteri maupun jamur pathogen yang dapat tumbuh pada sistem hidroponik, terdapat juga beberapa bakteri potensial yang dapat membantu dalam tumbuhnya tanaman pada sistem hidroponik yang banyak ditemukan, diantaranya yakni:

- 1) Nihorimbere *et al.* (2012) menyatakan bahwa meskipun mekanisme *Bacillus sp.* dalam membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman belum banyak diketahui, tetapi spesies tersebut dapat memproduksi antibiotic yang dapat melawan pathogen.

- 2) *Pseudomonas sp.* yang memiliki sifat antagonis dan aktivitas antifungal melawan *Fusarium sp.*, dibuktikan pada penelitian Chatterton *et al.* (2004) dimana pada penelitian tersebut spesies *P. chlororaphis* pada pertumbuhan tanaman cabai di hidroponik system efektif dalam menekan infeksi oleh *P. aphanidermatum* and *P. dissotocum* dan juga membantu dalam mengontrol pembusukan akar.
- 3) *Streptomyces sp.* diketahui bahwa species ini dapat mencegah atau mengurangipathogen pada tanaman Raaijmakers *et al.*, (2010).
- 4) *Enterobacter aerogenes* diketahui sebagai salah satu bakteri potensial pada tanaman timun di system hidroponik (Utkhede *et.al.*, 1999 dalam Lee dan Jiyoun Lee 2015)

2.2 Teknik Sampling

Metode sampling menggunakan metode purposive sampling, yaitu pengambilan sampel secara sengaja, sesuai dengan persyaratan sampel yang diperlukan dengan asumsi bahwa sampel yang diambil dapat mewakili populasi dari lokasi penelitian. Menurut Notoatmodjo (2002). metode *purposive sampling* yaitu penentuan lokasi dan responden dengan beberapa pertimbangan tertentu oleh peneliti, berdasarkan ciri atau sifat-sifat populasi yang sudah diketahui sebelumnya. Pertimbangan yang diambil dalam menggunakan metode *purposive sampling* pada penelitian ini yakni diambil *rockwool* dari tiga media tanaman hidroponik yang berusia sekitar satu bulan, kemudian dihomogenkan menggunakan akuades steril menggunakan shaker selama sekitar 5-10 menit untuk kemudian diambil cairan hasil homogenasi tersebut untuk dilakukan penanaman pada media agar dengan cara *pour plate* yang sebelumnya telah dilakukan pengenceran bertingkat.

2.3 Isolasi Bakteri

Mengisolasi suatu bakteri ialah memisahkan bakteri tersebut dari lingkungannya di alam dan menumbuhkannya sebagai biakan murni dalam medium buatan. Bakteri jarang terdapat di alam dalam keadaan murni. Kebanyakan merupakan campuran bermacam-macam spesies bakteri. Macam-macam cara mengisolasi dan menanam bakteri adalah:

a. *Spread plate method* (cara tebar/sebar)

Teknik spread plate merupakan teknik isolasi bakteri dengan cara menginokulasi kultur bakteri secara pulasan/sebaran di permukaan media agar yang telah memadat. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan biakan kultur bakteri. Karena konsentrasi sel-sel bakteri pada umumnya tidak diketahui, maka pengenceran perlu dilakukan beberapa tahap, sehingga sekurang-kurangnya ada satu dari pengenceran itu yang mengandung koloni terpisah (30- 300 koloni). Koloni mikrobial yang terpisah memungkinkan koloni tersebut dapat dihitung (Benson, 2001).

b. *Streak plate method* (cara gores)

Cara ini dasarnya ialah menginokulasi medium agar yang sedang mencair pada temperatur 45-50°C dengan suspensi bahan yang mengandung bakteri, dan menuangkannya ke dalam cawan petri steril. Setelah inkubasi terlihat koloni-koloni yang tersebar di permukaan agar yang mungkin berasal dari 1 sel bakteri, sehingga dapat diisolasi lebih lanjut (Benson, 2001).

c. *Pour plate method* (cara tabur)

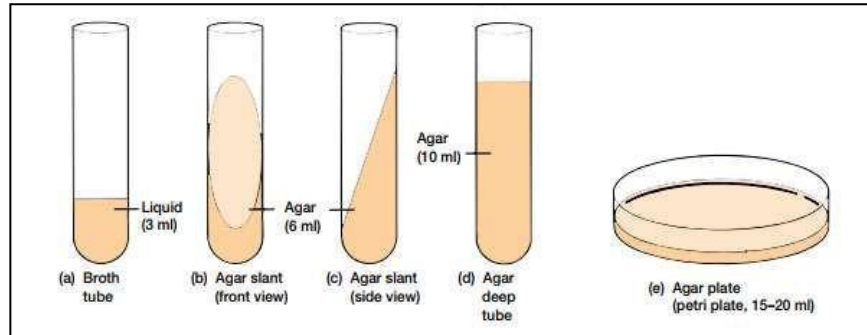
Cara gores umumnya digunakan untuk mengisolasi koloni bakteri pada cawan agar sehingga didapatkan koloni terpisah dan merupakan biakan murni. Cara ini dasarnya ialah menggoreskan suspensi bahan yang mengandung bakteri pada permukaan medium agar yang sesuai pada cawan petri. Setelah inkubasi maka pada bekas goresan akan tumbuh koloni-koloni terpisah yang mungkin berasal dari 1 sel bakteri, sehingga dapat diisolasi lebih lanjut. Penggoresan yang sempurna akan menghasilkan koloni yang terpisah. Bakteri yang memiliki flagella seringkali membentuk koloni yang menyebar terutama bila digunakan lempengan yang basah. Untuk mencegah hal itu harus digunakan lempengan agar yang benar-benar kering permukaannya (Benson, 2001).

2.4 Media Kultur Bakteri

Kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroorganisme tergantung pada nutrisi yang tersedia dan lingkungan pertumbuhan yang

menguntungkan. Di laboratorium, persiapan nutrisi yang digunakan untuk membudidayakan mikroorganisme disebut media. Tiga bentuk fisik media yang digunakan yakni media cair atau kaldu, media semi-padat, dan media padat. Perbedaan utama diantara media ini terletak pada ada tidaknya zat pematat (biasanya agar) dimana pada media padat dan semi padat mengandung agar, sedangkan media cair tidak

mengandung agar (Prescott, 2002).



Gambar 4. Pembuatan Media Cair dan Padat

Media cair, seperti *nutrient broth*, *tryptic soy broth*, atau *brain-heart infusion broth*, dapat digunakan untuk menyebarkan sejumlah besar mikroorganisme dalam studi fermentasi dan untuk berbagai tes biokimia. Media semi-padat juga dapat digunakan dalam studi fermentasi, dalam menentukan motilitas bakteri, dan dalam mempromosikan pertumbuhan anaerob. Media padat, seperti *nutrient agar* atau *blood agar*, digunakan untuk mengamati penampilan koloni, isolasi kultur murni, penyimpanan kultur, dan mengamati reaksi biokimia spesifik (Prescott, 2002).

Mikroorganisme dapat dikultur menggunakan dua jenis media yang berbeda yakni media sintetis dan media non sintetis. Media sintetis, terdiri dari jumlah bahan kimia murni yang disesuaikan dengan kebutuhan atau tujuan isolasi bakteri. Media semacam itu sering digunakan dalam pembiakan mikroorganisme autotrofik seperti alga atau *nonfastidious heterotrophs*. Media non sintetis terdiri dari bahan kompleks yang kaya akan vitamin dan nutrisi. Tiga komponen yang paling umum digunakan pada media non sintetis adalah ekstrak daging sapi, ekstrak ragi, dan pepton (Prescott, 2002).

2.5 Sterilisasi Media dan Peralatan

Sterilisasi adalah proses render medium atau bahan sehingga bebas dari segala mikroorganisme. Ada tiga teknik dasar untuk melakukan sterilisasi media. Teknik utama adalah dengan menggunakan *autoclave*, di mana media disterilkan dengan paparan uap pada suhu 121°C selama 15 menit atau lebih, tergantung pada sifat media tersebut. Dalam kondisi ini, mikroorganisme, bahkan endospora, tidak akan bertahan lebih lama dari

sekitar 12 hingga 13 menit (SGM, 2006).

Peralatan yang akan digunakan dalam laboratorium juga harus disterilkan terutama peralatan kaca seperti *beaker glass*, cawan petri, pipet, dll. Penggunaan autoclave cenderung membuat peralatan tersebut menjadi lembab. Oleh karenanya, peralatan tersebut umumnya disterilkan dengan metode *dry-heat sterilized* yakni ditempatkan dalam oven listrik dengan suhu antara 160°C dan 170°C sekitar 2 jam atau lebih lama. Suhu oven tidak boleh naik di atas 180°C agar kapas atau kertas yang ada tidak hangus (SGM, 2006).

Terdapat beberapa media yang terbuat dari komponen yang tidak tahan terhadap pemanasan pada 121°C. Media semacam itu dapat disterilkan dengan cara melewatkannya melalui filter bakteriologis, yang secara fisik menghilangkan mikroorganisme yang lebih besar dari larutan. Filter kaca berserat dengan ultrafine, cakram frit (ukuran pori 0,9 hingga 1,4 µm) dan corong saringan asbes Seitz (tebal 3 mm dengan pori-pori 0,1 µm) cukup efektif dalam mensterilkan media ini. Namun, jika ukuran pori lebih besar dari 0,22 µm digunakan, ada kemungkinan besar filtrat tidak akan steril. Sejauh ini, pendekatan yang paling populer adalah penggunaan membran steril, selulosa atau polycarbonate berbasis khusus dari ukuran pori yang sesuai (SGM, 2006).

Dua teknik sterilisasi lainnya menggunakan radiasi ultraviolet dan etilen oksida. Radiasi ultraviolet (UV) sekitar 260 nm cukup mematikan bagi banyak mikroorganisme. UV digunakan sebagai agen sterilisasi hanya dalam beberapa situasi tertentu. Sebagai contoh, lampu UV kadang-kadang ditempatkan di langit-langit kamar atau di lemari pengaman biologis untuk mensterilkan udara dan permukaan yang terbuka (SGM, 2006).

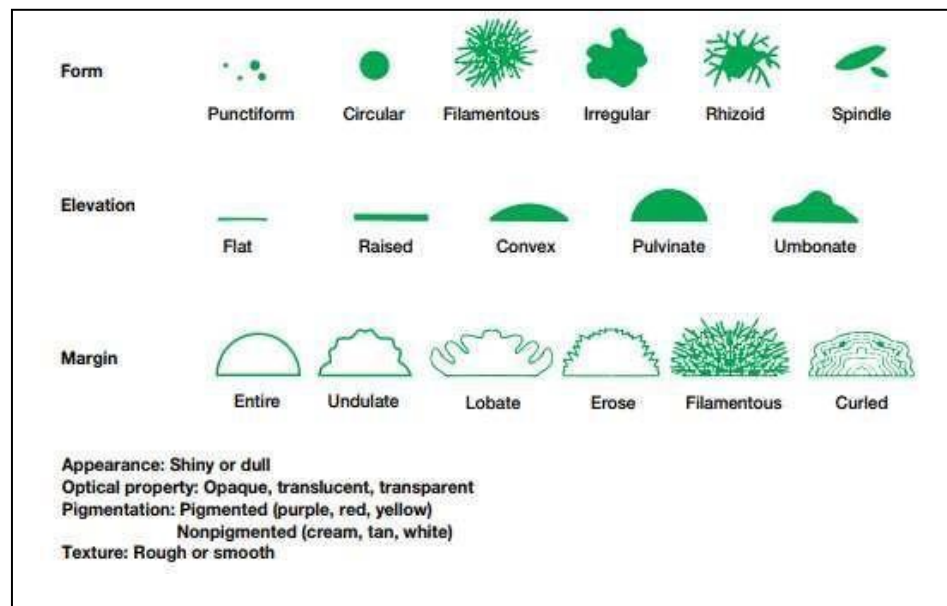
Banyak peralatan yang sensitif terhadap panas seperti cawan petri plastik sekali pakai, jarum suntik, jahitan, dan kateter sekarang disterilkan dengan gas etilen oksida. Etilen oksida adalah mikrobisida dan sporisida dan membunuh dengan menempel secara kovalen pada protein sel. Etilen oksida adalah agen sterilisasi yang sangat efektif karena cepat menembus bahan kemasan, bahkan pembungkus plastik (SGM, 2006).

2.6 Identifikasi Bakteri

2.6.1 Karakteristik Makroskopis

Mengidentifikasi suatu bakteri dapat dilakukan dengan mengamati karakteristik makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia bakteri tersebut (Mohamad *et al.*, 2004). Karakteristik makroskopis yang dapat diamati pada bakteri meliputi bentuk koloni yaitu berbentuk titik, bulat, tidak teratur, sepertiakar, dan berfilamen atau berbenang. Tepi koloni dapat berbentuk utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang, dan keriting. Warna koloni terdiri

dan keputihan, kekuningan, kemerahan, cokelat, jingga, orange, pink, hijau, dan ungu. Elevasi koloni meliputi rata, timbul datar, melengkung, dan cembung. Struktur koloninya halus mengkilat, kasar, berkerut, atau kering seperti bubuk. Selain itu, ukurannya pun beragam dapat dilakukan dengan mengukur diameter dan koloni bakteri yang tumbuh (Prescott, 2002).



Gambar 5. Karakteristik Morfologi Bakteri

Karakteristik makroskopis pada kapang meliputi pengamatan terhadap warna koloni bagian atas dan bawah, keadaan permukaan koloni (rata, menggunung, atau bergelombang/berkeriput), tekstur koloni (beludru, berbutir-butiri/*powdery*, seperti kapas/*cottony*, atau *glabrous*), garis radial, lingkaran konsentris, dan *exudate dross* (Nakhchian *et al.*, 2014).

2.6.2 Karakteristik Mikroskopis

Setelah dilakukan pengamatan karakteristik secara makroskopis, kemudiandilakukan pengamatan karakteristik mikroskopis pada bakteri. Pada bakteridilakukan dengan pewarnaan gram dan endospora. Kegiatan memberikanwarna pada sel bakteri bertujuan untuk memperjelas bentuk bakteri di bawahmikroskop, diferensiasi kelompok, dan menunjukkan produksi endospora.Untuk berbagai tujuan, terdapat bermacam-macam jenis perwarnaan, sepertiperwarnaan sederhana, perwarnaan negatif,

pewarnaan asam, pewarnaan flagel, pewarnaan kapsul, pewarnaan Gram dan pewarnaan spora. Setiap jenis pewarnaan memiliki zat pewarna yang relatif berbeda (Mohamad *et al.*, 2004). Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang berfungsi mengelompokkan bakteri atas dua jenis, yaitu Gram negatif dan Gram positif.

Pada tahap pewarnaan Gram, digunakan pewarna primer yakni kristal violet. Warna yang dihasilkan akan diperkuat oleh Iodin. Warna yang tidak berikatandengan dinding sel akan dibersihkan oleh alkohol atau aseton. Sel yang tidak mengikat warna kemudian diberikan pewarna lain, yaitu Safranin. Sel dengan Gram positif akan berwarna ungu, sementara Gram negatif akan berwarna merah muda (Alexander *et al.*, 2003).

Pewarnaan spora adalah pewarnaan bakteri yang mengambil fokus pada menandai endospora yang dihasilkan oleh bakteri. Endospora merupakan struktur berbentuk elips atau bulat yang dihasilkan oleh jenis bakteri tertentu. Struktur tersebut sangat stabil dan tahan terhadap kondisi yang tidak mendukung pertumbuhan, untuk kemudian berkembang menjadi bakteri baru saat keadaan lingkungan telah menjadi lebih baik (Oktari *et al.*, 2017). Pewarnaan spora bisa dilakukan dengan dua cara yaitu metode Schaeffer Fulton dan metode Wirtz – Conklin. Metode Schaeffer Fulton menggunakan pewarnaputama hijau malachite dan pewarna lawan berupa Safranin. Dalam proses pewarnaan digunakan uap panas untuk mempermudah masuknya zat warna kedalam sel bakteri menuju permukaan spora, dan akuades untuk melunturkan warna (Oktari *et al.*, 2017).

Pengamatan mikroskopis kapang dilakukan dengan menanam kapang pada *slide culture* media agar. Selanjutnya pengamatan dilakukan pada hifa kapang (aseptat, septat, atau rhizoid), pigmentasi hifa (hialin atau berwarna), bentuk hifa (lurus, spiral, rhizoid), bentuk spora (aseksual dan seksual), dan bentuk konidia. Metode *slide culture* merupakan metode standar karena dapat mempertahankan keseluruhan morfologi kapang secara mikroskopis tanpa merusak bagian kapang tertentu (Nakhchian *et al.*, 2014).

2.6.3 Uji Biokimia

Sifat metabolisme bakteri dalam uji biokimia biasanya dilihat dari interaksi metabolit-metabolit yang dihasilkan dengan reagen-reagen kimia. Selain itu dilihat kemampuannya menggunakan senyawa tertentu sebagai sumber karbon dan sumber energi. Adapun uji biokimia yang sering dilakukanyaitu (Prescott, 2002) :

a. SIM (Sulfat Indol Motility)

Hasil yang diperoleh pada uji ini adalah positif, hal ini terlihat adanya penyebaran yang berwarna putih seperti akar disekitar inokulasi. Hal ini menunjukkan adanya pergerakan dari bakteri yang diinokulasikan, yang berartibahwa bakteri ini memiliki flagella. Dari uji juga terlihat ada warna hitam, yang

berarti bakteri ini menghasilkan Hidrogen Sulfat (H₂S) (Waluyo, 2004).

b. TSIA (Triple Sugar Iron Agar)

Biasanya digunakan untuk konfirmasi pengujian *E. coli* dan dapat digunakan untuk identifikasi bakteri gram negatif yang memfermentasi dekstrosa/laktosa/sukrosa dan produksi H₂S. Terjadinya fermentasi dekstrosa oleh bakteri akan menurunkan pH menjadi asam. Kondisi ini akan menyebabkan perubahan phenol red (media merah) menjadi kuning. Sedangkan bakteri yang tidak mampu memfermentasi dekstrosa, maka media akan tetap berwarna merah.

c. Simmon Sitrat

Simmon sitrat atau nama lainnya Simmons Citrate Medium mengandung amonium dihidrogen fosfat, natrium klorida, natrium sitrat. Magnesium sulfat, agar, bromtimol biru, aquades dan memiliki pH 6,9 (Waluyo, 2004). Uji ini digunakan untuk menentukan apakah bakteri menggunakan natrium sitrat sebagai satu-satunya sumber karbon dan menggunakan garam anionium sebagai satu-satunya sumber nitrogen. Bakteri yang dapat menggunakan sitrat akan menggunakan garam amonium dan menghasilkan amonia, sehingga asam akan dihilangkan dari medium dan menyebabkan peningkatan pH. Peningkatan pH akan mengubah warna medium dari hijau menjadi biru.

d. Uji MRVP

Metabolisme karbohidrat pada bakteri akan menghasilkan produk berupa asam piruvat. Degradasi yang lebih lanjut dari asam piruvat akan menghasilkan asam campuran sebagai hasil akhir. Bakteri enterik akan melalui 2 jalur yang berbeda pada proses metabolisme asam piruvat yaitu fermentasi asam campuran atau jalur butilen glikol. Uji MRVP dilakukan untuk mengetahui hasil akhir dan fermentasi glukosa, dan masing-masing tes akan mendeteksi produk akhir dan jalur yang berbeda.

Uji metil merah digunakan untuk mengetahui adanya fermentasi asam campuran. Beberapa bakteri dapat memfermentasikan glukosa dan menghasilkan berbagai produk yang bersifat asam sehingga dapat menurunkan pH media pertumbuhannya hingga 5,0. Pada akhir pengamatan, indikator metilmerah yang ditambahkan pada media akan menunjukkan

perubahan pH menjadi asam dan media menjadi berwarna merah apabila hasil uji positif. Apabila suasana lingkungan basa maka media akan berwarna kuning dan hasilnya negatif.

Mikroorganisme yang mampu memfermentasikan karbohidrat dengan hasil akhir 2,3-butanadiol sebagai produk utama yang kemudian bahan tersebut akan

menumpuk di media pertumbuhan. Setelah dilakukan inkubasi, akan ditambahkan indikator berupa a-naftol dan KOH 40%. Asetoin yang merupakan senyawa pemula dalam sintesis 2,3-butanadiol akan terdeteksi setelah penambahan KOH 40% dan mengubah warna medium menjadi merah yang berarti hasil uji adalah positif.

2.7 Teknik Penghitungan Bakteri

Perhitungan bakteri adalah suatu cara yang digunakan untuk menghitung jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada suatu media pembiakan. Secara mendasar ada dua cara penghitungan bakteri, yaitu secara langsung dan secara tidak langsung. Ada beberapa cara perhitungan secara langsung, antara lain adalah dengan membuat preparat dari suatu bahan (preparat sederhana diwarnai atau tidak diwarnai) dan penggunaan ruang hitung (*counting chamber*). Sedangkan perhitungan secara tidak langsung hanya mengetahui jumlah mikroorganisme pada suatu bahan yang masih hidup saja (*viable count*). Dalam pelaksanaannya ada beberapa cara yaitu perhitungan pada cawan, perhitungan melalui pengenceran, perhitungan jumlah terkecil atau terdekat (*MPN metode*), cara kekeruhan atau turbidimetri (Prescott, 2002).

Teknik perhitungan yang digunakan dalam penelitian ini adalah teknik perhitungan tidak langsung yaitu metode perhitungan cawan (*total plate count*). Prinsip perhitungan cawan ini adalah jika bakteri yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar, maka sel bakteri tersebut akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode hitungan cawan merupakan cara yang paling sensitif untuk menghitung jumlah bakteri karena adanya alasan yaitu hanya sel yang hidup dihitung, beberapa jenis bakteri dapat dihitung sekaligus, dapat digunakan untuk isolasi atau identifikasi bakteri karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari satu sel. Metode hitungan cawan dibagi menjadi dua yaitu metode tuang (*pour plate*) dan metode permukaan/sebar (*surface/spread plate*) (Prescott, 2002).

Jumlah masing-masing cawan diamati setelah inkubasi, cawan yang dipilih untuk penghitungan koloni ialah yang mengandung antara 30 sampai

300 koloni, karena jumlah mikroorganisme dalam sampel tidak diketahui sebelumnya, maka untuk memperoleh sekurang-kurangnya satu cawan yang mengandung koloni dalam jumlah yang memenuhi syarat tersebut maka harus dilakukan sederetan pengenceran dan pencawanan. Jumlah organisme yang terdapat dalam sampel asal ditentukan dengan mengalikan jumlah koloni yang

terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan (Prescott, 2002). Ketepatan metode ini dipengaruhi beberapa faktor, antara lain : a) mediadan kondisi inkubasi (ketersediaan oksigen, suhu dan waktu inkubasi), b) kondisi sel mikroorganism (cedera atau injured cell), c) adanya zat penghambat pada peralatan atau media yang dipakai, atau yang diproduksi oleh mikroorganism lainnya, d) kemampuan pemeriksa untuk mengenal koloni, e) peralatan, pelarut dan media yang kurang steril, ruang kerja yang tercemar, f) pengocokan pada saat pengenceran yang kurang sempurna, g) kesalahan menghitung koloni dan perhitungan yang kurang tepat terhadap koloni yang menyebar atau yang sangat kecil.

BAB 3

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui jenis isolate bakteri yang terdapat pada *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.)
2. Mengetahui jumlah total bakteri (CFU/mL) pada *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.).
3. Mengetahui karakter makroskopis dan mikroskopis koloni bakteri yang sudah murni dari hasil isolasi *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.).
4. Mengidentifikasi genus bakteri yang didapatkan dari hasil isolasi berdasarkan hasil uji biokimia.
5. Mengetahui kemampuan bakteri dalam memfiksasi nitrogen.
6. Mengetahui kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA.
7. Mengetahui Bakteri Apa saja yang berpotensi sebagai Bakteri Pendukung dalam Biofertilizer

3.2 Manfaat Penelitian

1. Menambah referensi tentang kenakeragaman jenis bakteri yang berasal dari *rockwool* tanaman hidroponik
2. Menambah informasi tentang peranan bakteri dalam mempengaruhi kualitas dan kuantitas hasil panen menggunakan system hidroponik
3. Menambah pengetahuan tentang faktor apa saja yang menentukan hasil panen tanamandengan sistem penanaman hidroponik sehingga dapat ditemukan solusi atas permasalahan yang kerap terjadi pada bidudaya tanaman menggunakan sistem hidroponik.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Juli 2021 sampai dengan bulan Februari 2022 di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya.

4.2 Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Alat – alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, lampu Bunsen, rak tabung reaksi, *Laminar Air Flow*, botol kultur 100 mL, Erlenmeyer 500 mL, Erlenmeyer 250 mL, *object glass*, *autoclave*, mikroskop cahaya BX, gelas ukur, vortex, mikropipet 1000 μ L, *blue tip*, korek api, *Cling wrap*, *Alluminium foil*, kapas, spatula, timbangan digital, pipet ukur 10 mL, *tissue*, *cool box*, botol selai, pinset, *millimeter book*, *shaker*, gunting, spektrofotometer, inkubator, *sentrifuge*, tabung propilen, pipet tetes, jarum enten ujung lancip.

4.2.2 Bahan

Bahan – bahan yang dibutuhkan pada penelitian ini adalah alkohol 70%, spirtus, media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), media LB (*Luria Bertani*) agar (Trypton 10g, Yeast extract 5g, NaCl, 10g, Agar 20g, Aquades 1000mL), media Simmons Sitrat, media TSIA, media MR-VP, media SIM, kertas uji oksidase kit, larutan H₂O₂, reagen Kovac, *Malachite green* 0,5%, reagen *Methyl-Red*, larutan alphanaphthol 5%, KOH 40%, reagen Slakowsky, garam fisiologis (NaCl 0.85%), pewarna Gram Bakteri, minyak imersi, dan sampel penelitian yaitu rockwool beserta tanamannya (sawi pakcoy (*Brassica rapa* L.)) ukuran kecil (usia 1 minggu) dan besar (usia 5 minggu)

4.3 Cara Kerja

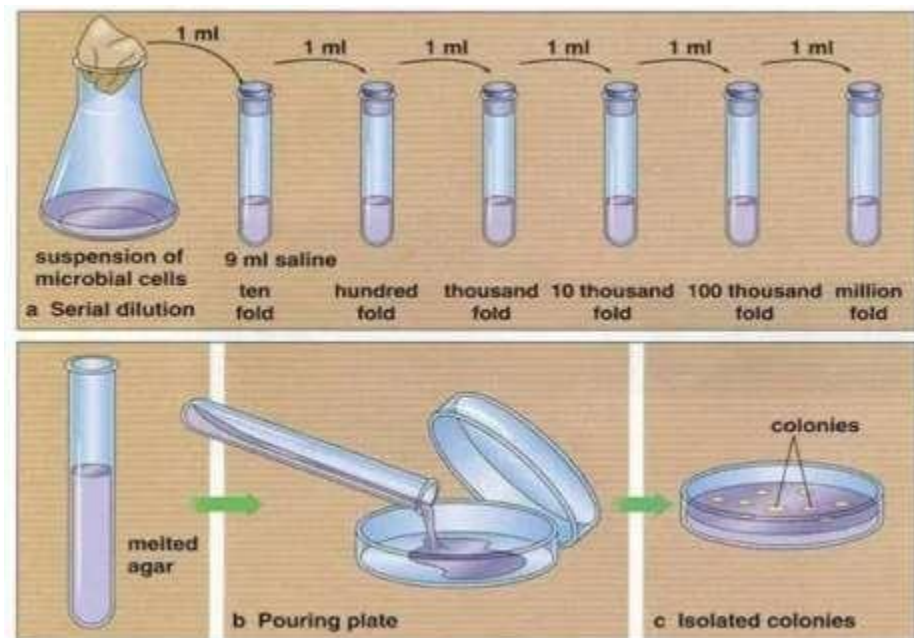
4.3.1 Isolasi dengan Metode Pegenceran Bertingkat

Sampel rockwool Tanaman Sawi Pakcoy (*Brassica rapa* L.) diambil

dari kebun *Green house* Kantor Dinas Ketahanan Pangan Surabaya. *Rockwool* dipisahkan dengan bagian batang Sawi dengan cara dipotong (Gambar 2). *Rockwool* yang berasal dari tanaman Sawi usia 1 minggu dan 5 minggudicampur kemudian ditimbang dengan timbangan digital sebanyak 25 gram dan

dilarutkan dalam 225 ml NaCl garam fisiologis 0,85% dalam 500 mL dalam erlenmeyer. Kemudian campuran tersebut, digojok dengan *shaker* selama 15 menit untuk melarutkan dan melepaskan mikroorgaisme yang melekat pada permukaan *rockwool* dan akar tanaman ke garam fisiologis.

Larutan garam fisiologis berisi *rockwool* yang sudah digojok, diencerkandengan metode pengenceran bertingkat hingga 10^{-6} pada tabung berisi 9 mL garam fisiologis 0,85% sebanyak 1 mL pada tiap pengencerannya (Gambar 3). Sebelum diencerkan ke pengenceran berikutnya, tabuang pengenceran divortex untuk menghomogenkan campuran. Setelah diperoleh 6 tabung pengenceran, dari setiap pengenceran diambil 0,1 mL dan dimasukkan pada cawan petri (diulang sebanyak 3 kali untuk setiap pengenceran). Ketiga cawan petri pada setiap pengenceran, masing – masing dituang dengan media NA (*Nutrient Agar*), media NB (*Nutrient Broth*), media LB (*Luria Bertani*) agar \pm 12 mL, kemudian cawan digeser membentuk angka 8 untuk meratakan media. Media yang sudah mengeras, diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam.



Gambar 6. Teknik Pengenceran Isolasi Bakteri (Orbit Biotech, 2018)

4.3.2 Perhitungan Bakteri dan Karakterisasi Bakteri (Makroskopis)

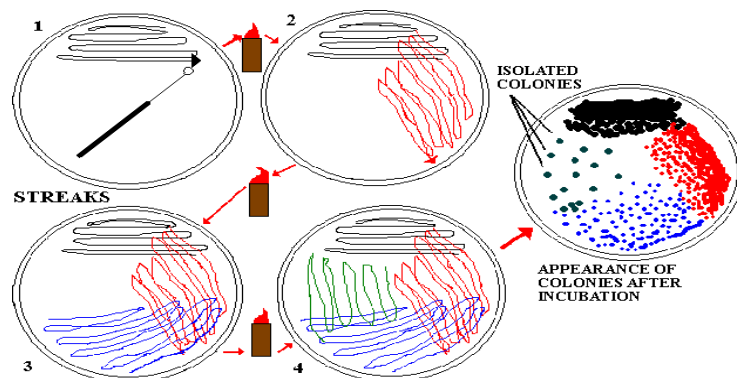
Setelah dilakukan inkubasi bakteri selama 48 jam kemudian

dihitung jumlah koloni bakteri yang ditemukan dengan *Colony Counter* (dihitung kolonibakteri paling dominan dari semua dilusi cawan petri). Cawan petri yang dipilih harus memenuhi syarat TPC yaitu, jumlah koloni yang dapat dihitung dari setiap jenis koloni yang ditemukan harus berkisar antara 30 – 300 koloni, koloni tidak tersebar atau letaknya tidak melebihi dari setengah cawan. Apabila dalam satu seri pengenceran terdapat dua cawan yang memenuhi syarat tersebut pada dua pengenceran yang berbeda, maka nilai TPC dari jumlah koloni pengenceran pada pengenceran yang lebih encer dibagi dengan TPC dari jumlah koloni pada pengenceran yang lebih ekat. Apabila hasil bagi tersebut ≤ 2 maka nilai TPC untuk jenis bakteri atau kapang tersebut dirata – rata. Sedangkan apabila hasil bagi tersebut > 2 maka nilai TPC dari bakteri atau kapang tersebut diambil dari nilai TPC pada pengenceran yang paling pekat (Suharjono, 2014). Bakteri yang ditemukan diberi label sesuai dengan jenis media dan spesies ke-*i*.

Koloni yang ditemukan dikarakterisasi berdasarkan kenampakan makroskopisnya. Variabel yang diamati adalah bentuk, warna, tepian, elevasi, ukuran, tekstur, *appearance*, *optical property* dari setiap koloni yang akan diberikan kode isolat.

4.3.3 Pemurnian Bakteri

Cawan petri berisi media NA disiapkan, dibagi menjadi empat bagian dengan spidol permanen. Koloni bakteri yang ditemukan dan sudah diberi kode isolat pada teknik dilusi masing – masing dicuplik dengan jarum ose secara aseptis dengan cepat didekat lampu bunsen. Isolat bakteri pada ujung jarum ose digoreskan pada media NA yang telah dibagi menjadi empat bagian dengan metode empat kuadran sebagai berikut.



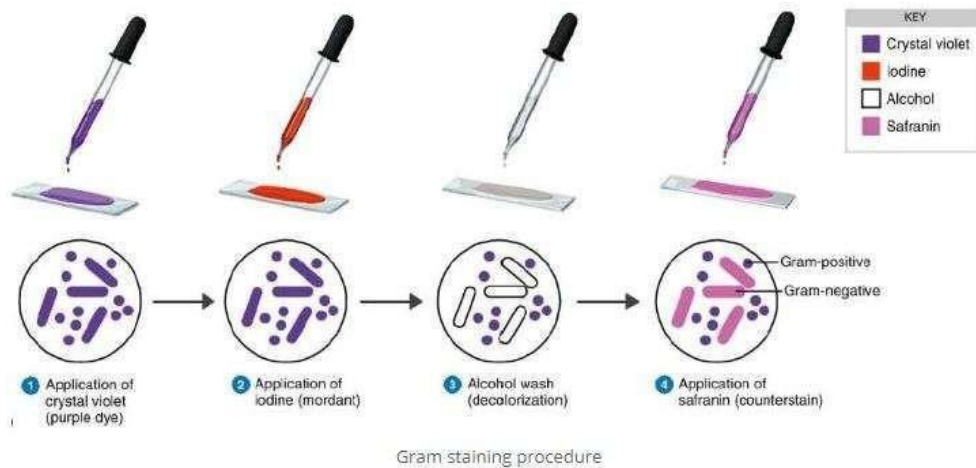
Gambar 7. Teknik *Streak Plate* metode kuadran (PureCulture, 2010)

Setelah di-*streak* cawan petri ditutup dan diputar didekat lampu bunsen.

Dilakukan cara yang sama pada isolat bakteri lain. Isolat bakteri yang telah di-*streak* diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Kemudian koloni bakteri yang tumbuh pada kuadran keempat merupakan isolat satu spesies bakteri murni diinokulasikan dengan metode *streak* pada media NA miring sebagai stok kultur.

4.3.4 Pewarnaan Bakteri

Pada pewarnaan bakteri untuk membedakan bakteri gram positif dan gramnegatif diawali dengan inokulasi isolat bakteri murni dari media NA slant berumur 24 jam. Satu oose isolat diambil dan diusapkan pada *object glass* yang sudah ditetesi aquades steril secara aseptis. Isolat bakteri yang ada diujung jarum ose diletakkan pada aquades diatas *object glass* dan dicampurkan dengan jarum ose kemudian diberi label. *Object glass* difiksasi dengan cara dikering anginkan diatas bara lampu bunsen dan didiamkan hingga 10 menit. *Object glass* siap diwarnai dengan cara ditetesi pewarna gram A (kristal violet) selama 1 menit, kemudian dialiri air secukupnya dan ditetesi dengan pewarna gram B (Iodine) selama 1 menit, dialiri air dan dilanjutkan dengan ditetesi pewarna gram C (alkohol) selama 30 detik, dialiri air kemudian ditetesi dengan pewarna gram D (safranin) selama 1 menit. Pewarnaan dilakukan dalam rak pengecatan. Setelah tahapan pewarnaan selesai, preparat dikering anginkan sebelum diamati dengan mikroskop. Setelah kering, preparat dengan isolat bakteriditutup dengan *cover glass* dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran 400x dan 1000x dengan bantuan minyak imersi. Gambar isolat bakteri



Gambar 10. Prosedur pewarnaan Bakteri Gram Positif dan Gram Negatif

mikroskop difoto dan dikelompokkan menjadi bakteri gram positif atau negatif, dideskripsikan warna dan bentuk isolat bakteri yang nampak.

4.3.5 Uji Biokimia

4.3.5.1 Uji Oksidase

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam, dan kertas test kit. Diinokulasikan seose isolat biakan bakteri ke ujung test kit secara aseptis didekat lampubunsen dengan digesek – gesekan. Hasil positif diketahuidengan adanya perubahan warna gelap pada kertas oksidase kit.

4.3.5.2 Uji Katalase

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam dan *object glass* yang telah diterilkan dengan alkohol. Ditetaskan 1 – 2 tetes H_2O_2 pada *object glass*, dan ditambahkan seose isolat biakan bakteri. Dicampurkan hingga homogen dan diamati ada tidaknya gelembung yang terbentuk.

4.3.5.3 Uji MR-VP

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam dan media MR-VP Broth. dan untuk uji Voges-Proskauer Broth. Masing – masing tabung diinokulasi dengan seose isolat bakteri dengan teknik aseptis didekat lampu bunsen. Kemudian diinkubasi pada suhu $30^\circ C$ selama 24 jam. Pada uji Methyl-Red, ditetesi reagen Methyl-Red 5 tetes dan dikocok, kemudian hasil positif ditunjukkan dengan perubahan media menjadi merah. Pada uji Voges-Paskuer, 1 mL media

MR-VP yang sudah diinkubasi dipindah ke tabung kosong lain dan ditambahkan 0,6 mL alphanaphthol 5% + 0,2 mL KOH 40% dan ditunggu sekitar 15 menit, kemudian hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah.

4.3.5.4 Uji Simmons Sitrat

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam, tabung reaksi berisi medium Sitrat Simmons. Diinokulasi dengan jarum enten ujung lancip dan ditusukkan ke dalam media (secara tegak lurus) lalu ditarik dengan digoreskan pada permukaan media secara aseptis didekat lampu bunsen. Diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Diamati pertumbuhan yang terjadi pada medium. Hasil positif ditunjukkan adanya perubahan media menjadi biru.

4.3.5.5 Uji Fermentasi Gula, Produksi H₂S, dan Gas

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam, tabung reaksi berisi medium TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*). Diinokulasi dengan jarum enten ujung lancip dan ditusukkan ke dalam masing – masing media (secara tegak lurus) lalu ditarik dengan digoreskan pada permukaan media secara aseptis didekat lampu bunsen. Diinkubasi pada suhu 30 °C selama 48 jam. Diamati pertumbuhan yang terjadi pada medium. Uji dinyatakan positif apabila terjadi perubahan warna media menjadi kuning, terbentuknya H₂S ditandai dengan perubahan warna media menjadi hitam, dan terbentuknya gas ditandai dengan terangkatnya media dari dasar tabung.

4.3.5.6 Uji Motilitas

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam, tabung reaksi berisi medium SIM (*Sulfide Indole Motility*). Satu oose isolat diinokulasikan ke media secara tegak lurus hingga setengah media secara aseptis didekat lampu bunsen. Diinkubasi pada suhu 30 °C selama 7 hari. Diamati pertumbuhan yang terjadi pada medium. Hasil positif ditandai dengan adanya pertumbuhan bakteri yang menyebar di luar garis bekas tusukan inokulasi.

4.3.6 Identifikasi Bakteri (Berdasarkan Hasil Uji Biokimia)

Identifikasi genus isolat bakteri dilakukan dengan menggunakan kunci

dikotomi berdasarkan sifat biokimia, kenampakan mikroskopis dan makroskopi bakteri sesuai buku *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*.

4.3.7 Uji Kemampuan Bakteri dalam Memfiksasi Nitrogen

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NA slant berumur 24 jam, setiap isolat diambil sebanyak 2 ose dan diinokulasikan pada media *Nitrogen Free Bromothymol Blue Semi Solid* (NFBB) diinkubasi pada suhu 30 °C selama 6 hari. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi biru dan terbentuk flok seperti cincin berwarna putih pada permukaan media.

4.3.8 Uji Kemampuan Bakteri dalam Produksi IAA

Setiap isolat bakteri disiapkan pada NB berumur 24 jam, 5 mL kultur masing – masing isolat diinokulasikan pada 45 mL media Luria Bertani Broth (volume total setelah inokulasi 50 mL). Kultur diinkubasi selama 6 hari pada *rotary shaker*. Sebanyak 10 mL setaip isolat dimasukkan pada tabung propilen untuk disentrifugasi pada 6000rpm, 15 menit. Sebanyak 2 mL supernatan setiap isolat dipindahkan ke tabung reaksi kosong lainnya, ditambahkan 2 mL reagen Salkowsky kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit. Diamati perubahan warna yang terjadi. Hasil positif produksi IAA ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah muda (pink). Secara kuantitatif kandungan IAA pada media diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 535nm (blanko : media LB + Reagen Salkowsky). Nilai absorbansi setiap isolat dicatat, kemudian dikonversi menjadi kandungan IAA (ppm) dengan kurva standart IAA.



BAB 5



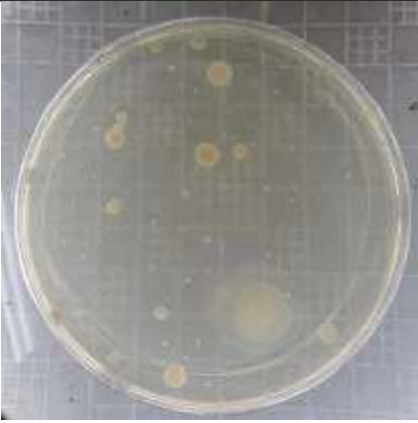
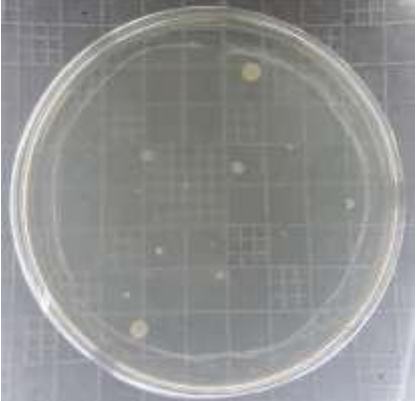
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN




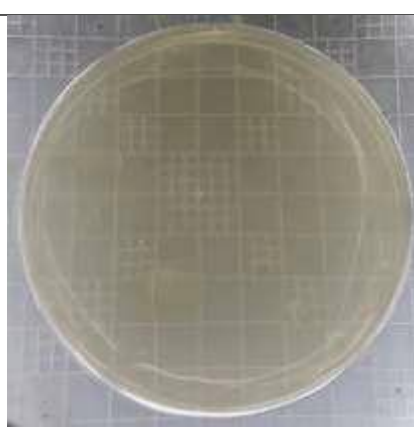
5.1 Hasil Isolasi dan Kuantifikasi Bakteri (TPC)

Hasil isolasi Mikroorganisme dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*) pada 24 jam belum terdapat koloni yang tumbuh sehingga pengamatan dilakukan pada waktu inkubasi 48 jam. Hasil inkubasi 48 jam didapatkan jumlah koloni seperti pada Tabel 1:

Tabel 1. Hasil Pengenceran Isolasi Mikroorganisme dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

Media	Pengenceran	Foto	Koloni Terhitung	Jumlah Koloni (CFU/mL)
NA	10^{-3}		27	TMS
	10^{-4}		64	$6,4 \times 10^6$

10^{-5}		4	TMS
10^{-6}		2	TMS
10^{-3}		150	$1,5 \times 10^6$
PDA		27	TMS

10^{-5}		2	TMS
10^{-6}		0	TMS
10^{-3}		65	$6,5 \times 10^6$
LB		1	TMS

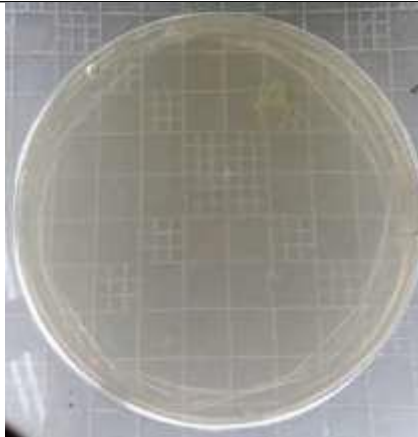
10^{-5}



0

TMS

10^{-6}



0

TMS

Keterangan:

TMS: Tidak Memenuhi Syarat Perhitungan TPC (jumlah koloni < 30)

Pada praktikum ini dilakukan percobaan mengenai metode *Total Plate Count* (TPC) dengan menggunakan sampel yang berasal dari *rockwool* yang diambil dari media tanam hidroponik. metode ini merupakan analisis untuk menguji cemaran bakteri dengan menggunakan metode pengenceran dan metode cawan tuang. Metode cawan tuang adalah metode *pour plate*. Metode ini dilakukan dengan mengencerkan sumber isolat yang telah diketahui beratnya ke dalam 9 ml larutan garam fisiologis, larutan yang digunakan sekitar 1 ml suspensi ke dalam cawan petri steril, dilanjutkan dengan menuangkan media sebagai nutrisi tumbuh bakteri (Dwidjoseputro, 2005).

Dari hasil praktikum yang dilakukan didapatkan hasil dengan perhitungan menggunakan digital *colony counter* didapatkan hasil yang berbeda-beda dari tiap-tiap cawan petri dengan pengenceran yang berbeda namun dapat disimpulkan bahwa semakin tinggi tingkat pengenceran yang dilakukan maka semakin sedikit bakteri yang tumbuh dalam media. Hasil menunjukkan bahwa pada pengenceran tertinggi yakni 10^6 tidak ada bakteri yang tumbuh pada semua jenis media. Sedangkan pada pengenceran 10^3 dan 10^4 , terdapat bakteri yang tumbuh dan berada pada nilai ambang batas dimana nilai ambang batas yakni

antara 30-300 CFU/g (Fardiaz, 2004). Sebaran jumlah koloni tiap sampel dan tiap faktor pengenceran menunjukkan adanya keragaman data yang seragam dan sesuai prinsip faktor pengenceran, yang mana semakin tinggi faktor pengenceran maka semakin rendah jumlah koloni bakteri atau faktor pengenceran berbanding terbalik dengan jumlah koloni bakteri.

5.2 Hasil Pengamatan Makroskopis Bakteri

Berdasarkan hasil isolasi, didapatkan 16 koloni bakteri yang berbeda namun tidak didapatkan koloni kapang dan yeast pada isolasi mikroorganisme dari rockwool hidroponik tanaman sawi (*Brassica chinensis*). Kemudian diamati karakteristik makroskopis yang tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Makroskopis Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

No.	Kode Isolat	Bentuk	Tepian	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Appearance	Warna	Optical Property
1.	NA1	Circular	entire	Raised	large	smooth	shiny	cream	translucent
2.	NA2	Circular	entire	Convex	small	smooth	shiny	yellow	opaque
3.	NA3	Irregular	undulate	Convex	Moderate	smooth	shiny	cream	opaque

4.	NA4	Irregular	undulate	Raised	large	rough	dull	white	opaque
5.	NA5	Circular	entire	flat	large	smooth	shiny	cream	opaque
6.	NA6	Spindle	entire	Convex	small	rough	shiny	cream	opaque
7.	PDA1	Filament	filament	flat	large	smooth	shiny	cream	transparant
8.	PDA2	Circular	entire	flat	Moderate	smooth	shiny	cream	opaque
9.	PDA3	Spindle	entire	Convex	small	smooth	shiny	cream	opaque
10.	PDA4	Irregular	undulate	Raised	Moderate	smooth	shiny	cream	opaque
11.	PDA5	Circular	entire	flat	Moderate	smooth	Shiny	cream	Opaque
12.	PDA6	Circular	entire	convex	large	smooth	shiny	Cream +transparent	Opaque +transparent
13.	LB1	Circular	entire	Raised	Moderate	smooth	shiny	cream	opaque
14.	LB2	Spindle	entire	flat	small	smooth	shiny	cream	opaque
15.	LB3	Circular	entire	flat	large	smooth	dull	cream	transparant
16.	LB4	Irregular	undulate	Raised	small	rough	shiny	cream	opaque

Setelah dilakukan pengisolasian dari *rockwool*, kemudian dilakukan karakterisasi secara makroskopik yakni pengamatan berdasarkan morfologi koloni dengan mata telanjang pada cawan pengenceran medium NA, PDA, dan LB dari pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-6} . Dari medium pengenceran NA didapatkan 6 isolat bakteri berbeda, dari medium PDA didapatkan 6 isolat bakteri berbeda, dan dari medium LB didapatkan 4 isolat bakteri berbeda. Dalam praktikum ini, semua isolat yang didapatkan merupakan bakteri dikarenakan terdapat *human error* ketika pengisolasian bakteri *rockwool* pada medium PDA serta tidak didapatkan yeast.

Hasil pengamatan karakteristik mikroskopis 12 isolat bakteri yang didapatkan dari *rockwool* hidroponik tanaman sawi (*Brassica chinensis*) meliputi bentuk, tepian, elevasi, ukuran, tekstur, *appearance*, warna, dan *optical density*. Sebagian besar bentuk isolat bakteri yang didapatkan berbentuk circular sebanyak 8 isolat, berukuran large sebanyak 6 isolat, tepian entire sebanyak 11 isolat, elevasi flat sebanyak 6 isolat, tekstur smooth sebanyak 13 isolat, penampakan shiny sebanyak 14 isolat, berwarna cream sebanyak 13 isolat, dan optical density opaque sebanyak 13 isolat. Namun, terdapat 1 isolat yang berbeda dari yang lain

yakni memiliki bentuk filamen dan tepian filamen yakni pada kode isolat PDA1.



Medium PDA merupakan medium umum yang diperuntukkan untuk dapat mendeteksi kapang (Ravimannan *et al.*, 2014) namun pada praktikum ini, medium PDA tidak ditumbuhi oleh kapang maupun yeast melainkan ditumbuhi oleh bakteri. Medium PDA mengandung komponen dextrose, *potato extract*, dan agar (Ravimannan *et al.*, 2014). Dalam pengisolasian kapang pada medium PDA, perlu ditambahkan antibiotik untuk menghambat pertumbuhan bakteri salah satunya adalah penambahan kloramfenikol (Jayaram dan Nagao, 2018).

Rockwool merupakan jenis sistem *soilless*, sehingga memang komunitas bakteri yang terdapat pada *rockwool* tidak sebanyak yang terdapat pada tanah. Sistem *soilless* ada yang berupa media tanam anorganik seperti erlite, pumice dan vermiculite, dan media tanam organik seperti sabut, gambut dan serat kayu. Menurut Koohakan *et al* (2004), karena *rockwool* merupakan salah satu media tanam anorganik maka sebagian besar bakteri yang terdapat pada *rockwool* adalah bakteri dibandingkan dengan jamur, sedangkan media tanam organik memiliki populasi jamur yang lebih besar. Hal tersebut dapat dikaitkan dengan jenis senyawa organik yang tersedia untuk mikroorganisme (Koohakan *et al.*, 2004).

5.3 Hasil Pengamatan Mikroskopis Bakteri

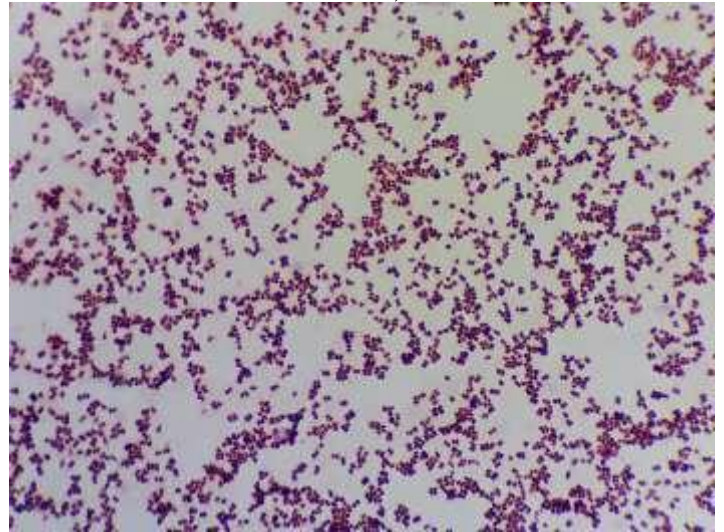
Setelah diamati karakteristik makroskopis, ke-16 isolat dimurnikan dengan metode kuadran *streak*. Namun, 4 isolat dengan kode NA5, PDA1, PDA5, dan PDA6 mati (sudah dilakukan pengulangan pemurnian sebanyak 3 kali). Karakteristik mikroskopis ke-12 isolat tertera pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengamatan Mikroskopis Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

No	Kode Isolat	Bentuk	Gram	Spora	Foto
4.	NA1	Basil pendek	+	-	<p>Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran kamera 2,5x</p>  <p>Ukuran sel : 1-2 μm</p>
5.	NA2	Basil	+	+	<p>Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran kamera 2,5x</p>  <p>Ukuran sel : 3 μm</p>

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

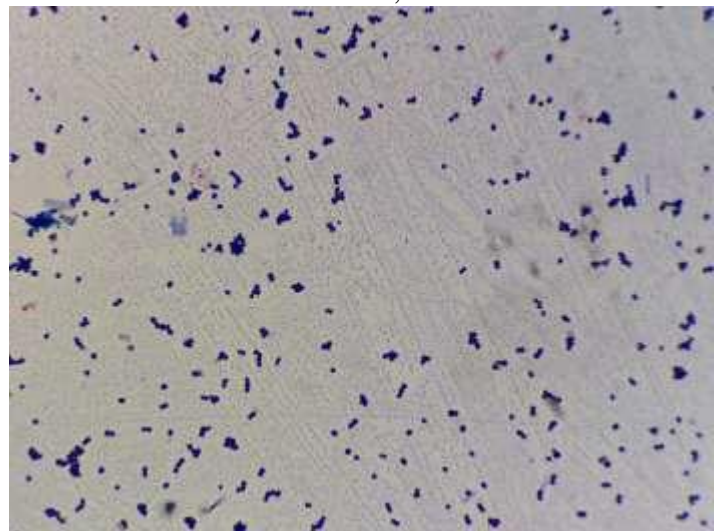
6. NA3 Cocus + 



Ukuran sel : 

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

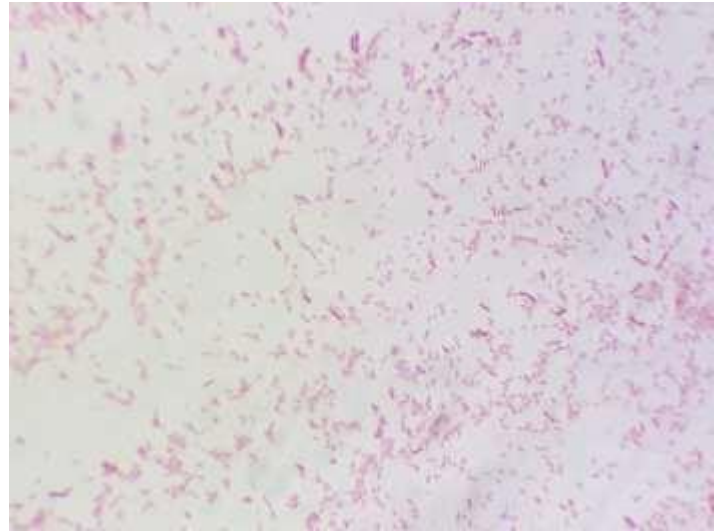
7. NA4 Cocus + -



Ukuran sel : 1 μ m

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

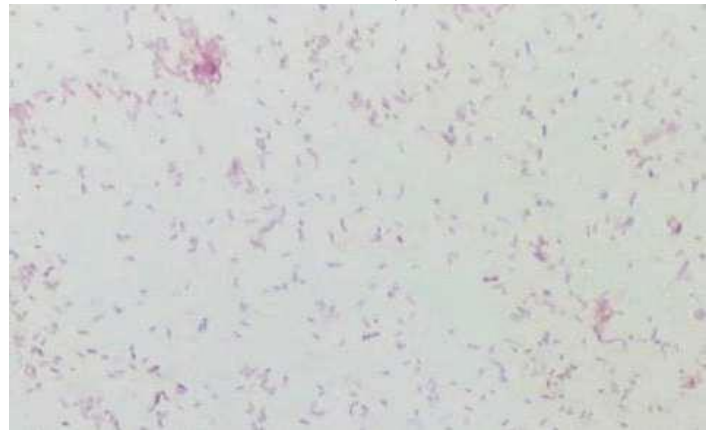
8. NA6 Basil + -



Ukuran sel : 1-2 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

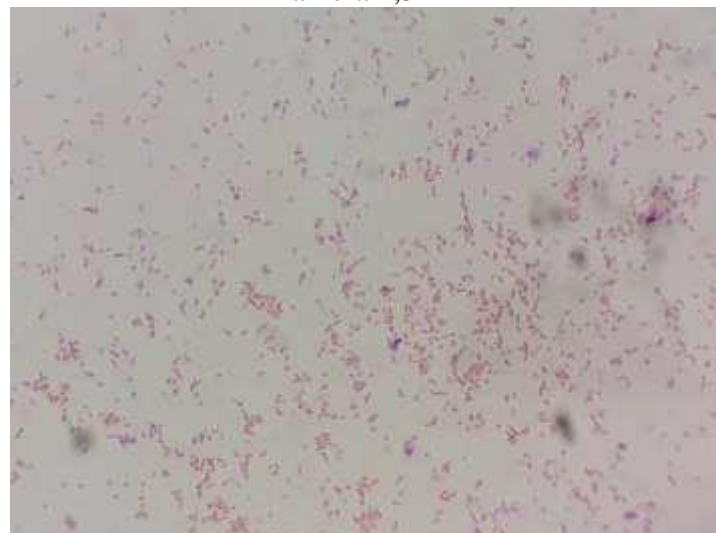
9. PDA2 Basil pendek - -



Ukuran sel : 2 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

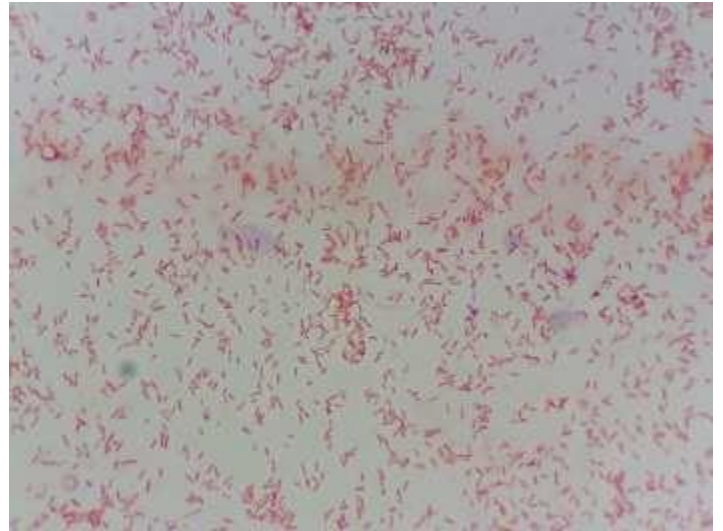
7. PDA3 Basil + -



Ukuran sel : 2-3 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

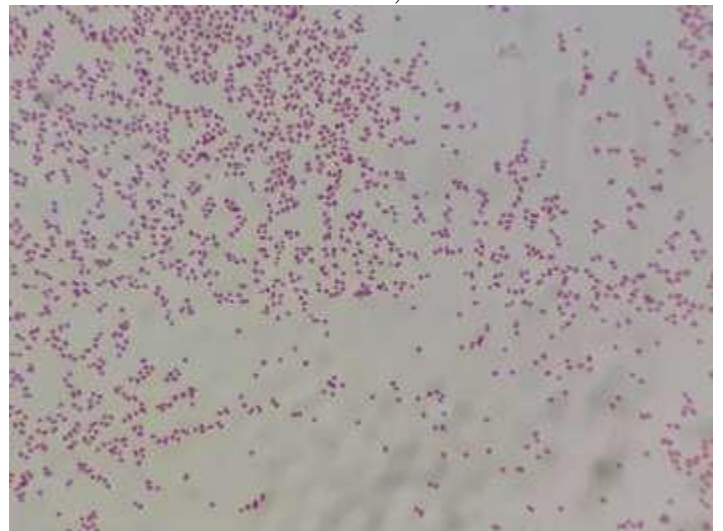
8. PDA4 Basil + +



Ukuran sel : 4 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

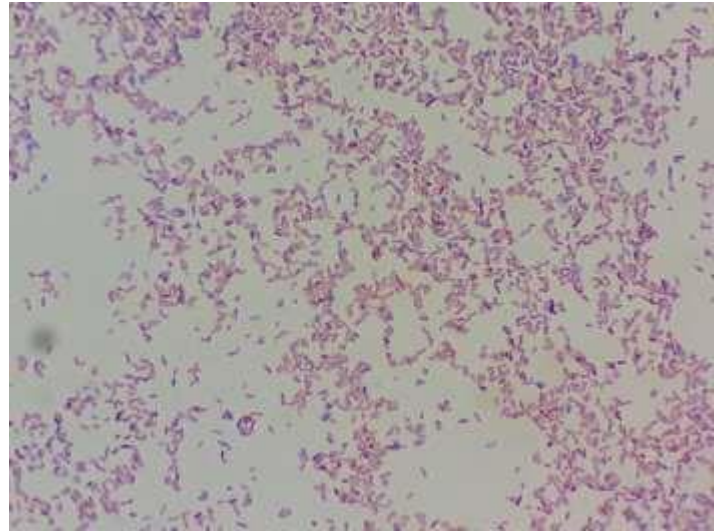
9. LB1 Cocus + -



Ukuran sel : 2-3 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

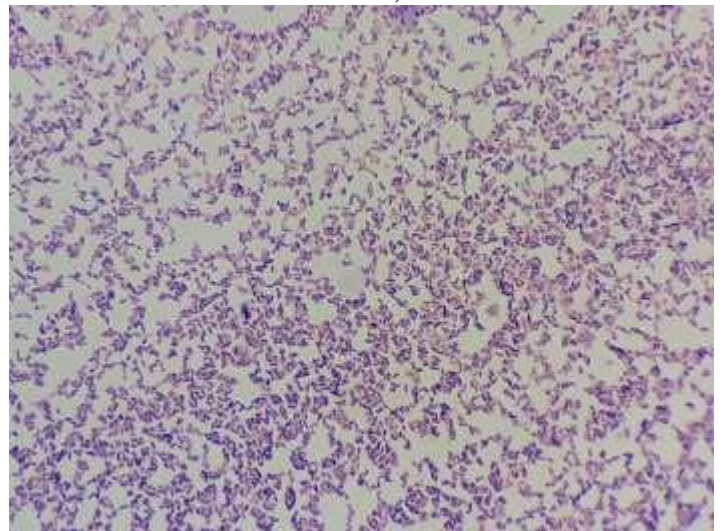
10. LB2 Basil + -



Ukuran sel : 1-2 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran
kamera 2,5x

11. LB3 Basil + -



Ukuran sel : 1 μm

Perbesaran mikroskop 1000x dengan perbesaran kamera 2,5x

12. LB4 Cocus - -



Ukuran sel : 1 μm

Keterangan :

Kolom spora (-) : tidak memproduksi spora

(+) : memproduksi spora

- : isolat mati

Setelah dilakukan pengamatan terhadap karakter makroskopis isolat bakteri, dilakukan pemurnian terlebih dahulu untuk mendapat isolat murni masing-masing isolat pada medium NA. Dalam proses pemurnian isolat, dari 16 isolat yang didapatkan ketika pengenceran, hanya 12 isolat yang berhasil dimurnikan. Hal ini terjadi karena adanya faktor-faktor yang berkontribusi pada pertumbuhan bakteri seperti suhu, pH, konsentrasi oksigen, dan konsentrasi nutrisi (Sarudu *et al.*, 2015).

Setelah didapatkan isolat murni sejumlah 12 isolat, lalu dilakukan pengamatan mikroskopis yakni pewarnaan gram. Pewarnaan Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang berfungsi mengelompokkan bakteri atas dua jenis, yaitu Gram negatif dan Gram positif. Pada tahap pewarnaan Gram, digunakan pewarna primer/warna dasar yakni kristal violet. Warna yang dihasilkan akan diperkuat oleh Iodin. Warna yang tidak berikatan dengan dinding sel akan dibersihkan oleh alkohol atau aseton. Sel yang tidak mengikat warna kemudian diberikan pewarna lain, yaitu Safranin. Sel dengan Gram positif akan berwarna ungu, sementara Gram negatif akan berwarna merah muda (Alexander *et al.*, 2003).

Dari 12 isolat dari isolasi *rockwool*, didapatkan yang termasuk bakteri gram positif sebanyak 10 isolat dan 2 isolat lainnya merupakan bakteri gram negatif. Kode isolat yang termasuk dalam bakteri gram positif antara lain NA1, NA2, NA3, NA4, NA6, PDA3, PDA4, LB1, LB2, dan LB3. Kode isolat yang termasuk dalam bakteri gram negatif antara lain PDA2 dan LB4.

Perbedaan komposisi dinding sel dari bakteri Gram positif dan Gram negatif inilah yang menyebabkan perbedaan hasil pewarnaan Gram. Dinding sel Gram positif mengandung lapisan peptidoglikan yang tebal dan lapisan lipid yang tipis dengan banyak ikatan silang asam *teichoic* yang menahan terjadinya dekolorisasi. Dekolorisasi sel menyebabkan dinding sel tebal ini mengalami dehidrasi dan menyusut sehingga menutup pori-pori di dinding sel dan mencegah warna kristal violet keluar dari sel. Sehingga etanol tidak dapat menghilangkan kompleks kristal violet-iodine yang terikat pada lapisan peptidoglikan bakteri gram positif yang tebal. Hal inilah yang menyebabkan bakteri gram positif tampak berwarna biru atau ungu (Pukhrambam, 2019).

Dinding sel bakteri gram negatif juga mengikat kompleks kristal violet-iodine tetapi karena lapisan peptidoglikan yang tipis dan lapisan luar adalah lapisan lipid yang tebal, ketika diberi etanol akan menyebabkan larutnya lipid di dinding sel, yang memungkinkan kompleks kristal violet-iodine untuk keluar dari sel. Sehingga ketika diwarnai lagi dengan safranin, bakteri gram negatif akan mengambil atau menyerap warna dari safranin sehingga tampak berwarna merah (Pukhrambam, 2019).

Spora bakteri adalah mekanisme bakteri yang sengaja diatur dalam upaya untuk mengamankan diri mereka terhadap efek buruk dari lingkungan eksternal. Lapisan luar spora merupakan penahan yang baik terhadap bahan kimia, sehingga spora sukar untuk diwarnai. Spora bakteri sangat sulit diwarnai dengan pewarna biasa, oleh karena itu harus diwarnai dengan pewarna spesifik. Spora bakteri dapat diwarnai dengan bantuan pemanasan. Pemanasan menyebabkan lapisan luar spora mengembang, sehingga zat warnadapat masuk. Zat warna yang digunakan dalam pewarnaan spora adalah *malachite green* yang akan tetap diikat oleh spora bakteri setelah pencucian dengan larutan safranin. Spora yang bebas akan berwarna hijau-biru dan sel vegetatif akan berwarna merah (Oktari *et al.*, 2017). Dalam praktikum ini, isolat bakteri yang menghasilkan endospora adalah NA2, PDA4, dan LB1.

5.4 Hasil Uji Biokimia dan Identifikasi Bakteri

Setelah melakukan dan mengamati hasil karakteristik mikroskopis, ke-12 isolat dimurnikan kembali dengan metode *streak* pada medium NA tabung (*slant*). Namun, 1 isolat dengan kode NA3 mati (sudah dilakukan pengulangan pemurnian sebanyak 3 kali). Sehingga tersisa 11 isolat. Hasil uji biokimia dan identifikasi ke-11 isolat tertera pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Biokimia Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

No	Kode Isolat	Uji Biokimia								Identifikasi Bakteri
		SS	MR	VP	SIM	TSIA		Kat	Oks	
						Gas	H ₂ S			
1.	NA1	+	+	+	+	+	-	-	+	<i>Mycobacterium</i> sp.
2.	NA2	-	+	+	+	-	-	-	+	<i>Bacillus</i> sp.
3.	NA4	-	-	+	+	-	-	+	+	<i>Mircrococcus</i> sp. <i>Staphylococcus</i> sp.
4.	NA6	+	+	+	+	+	-	-	+	<i>Mycobacterium</i> sp.
5.	PDA2	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Vibrio</i> sp. <i>Aeromonas</i> sp.

6.	PDA3	-	+	+	+	-	-	-	+	<i>Mycobacterium</i> sp.
7.	PDA4	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Bacillus</i> sp.
8.	LB1	+	+	+	+	-	-	-	+	<i>Streptococcus</i> sp. <i>Enterococcus</i> sp.
9.	LB2	+	-	-	+	+	-	-	+	<i>Lactobacillus fermenti</i>
10.	LB3	+	+	+	+	-	-	+	+	<i>Mycobacterium</i> sp.
11.	LB4	-	+	+	+	-	-	+	+	<i>Neisseria</i> sp. <i>Veillonella</i> sp.

Keterangan:

SS : *Simmon Sitrat*

- Hasil positif (+) apabila medium berubah dari warna hijau menjadi warna biru

MR : *Methyl Red*

- Hasil positif (+) apabila medium berubah menjadi warna merah

VP : *Voges Proskauer*

- Hasil positif (+) apabila medium berubah menjadi warna merah/kemerahan.

SIM : *Sulfide, Indole, Motility*

- Hasil positif (+) motil apabila pertumbuhan bakteri berdifusi diluar garis inokulasi.

TSIA : *Triple Sugar Iron Agar*

- Hasil positif (+) memproduksi gas apabila medium terangkat.
- Hasil positif (+) memproduksi H₂S apabila terdapat warna kehitaman pada medium.

Kat : Katalase

- Hasil positif (+) apabila menghasilkan gelembung setelah diberi H₂O₂.

Oks : Oksidase

- Hasil positif (+) apabila terjadi perubahan warna pada kertas strip.

Pada penelitian ini dilakukan beberapa uji biokimia diantaranya yakni: Uji MR atau *methyl red* dengan hasil pada isolat bakteri *Mycobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Neisseria* sp., dan *Veillonella* sp. adalah positif yang ditunjukkan dengan larutan berwarna merah. Pada Uji *Methyl Red* (MR) ini bertujuan untuk mendeteksi kemampuan organisme dalam memproduksi dan mempertahankan produk akhir asam stabil dari fermentasi glukosa. *Methyl red* adalah indikator pH, yang tetap berwarna merah pada pH 4,4 atau kurang.

Uji *Voges Proskauer* (VP) merupakan tes yang digunakan untuk mendeteksi acetoin dalam kultur

cair bakteri. Pengujian ini dilakukan dengan menambahkan *alphanaftol* dan kalium hidroksida dengan kaldu *voges Proskauer* yang telah diinokulasi dengan bakteri. Warna merah menunjukkan hasil yang positif, sedangkan warna kuning- coklat atau tidak berwarna merupakan hasil negative. Uji VP ini sebenarnya merupakan uji tidak langsung untuk mengetahui adanya 2,3 butanadiol. Karena uji ini lebih dulu menentukan asetoin, dan seperti yang kita ketahui bahwa asetoin adalah senyawa pemula dalam sintesis 2,3 butanadiol, sehingga dapat dipastikan bahwa dengan adanya asetoin dalam media berarti menunjukkan adanya produk 2,3 butanadiol sebagai hasil fermentasi. Pada uji ini semua isolat bakteri menunjukkan hasil positif kecuali pada isolat bakteri *Lactobacillus fermenti* yang menunjukkan hasil negative hal tersebut dikarenakan *Lactobacillus fermenti* membermentasi karbohidrat menjadi produk asam dan tidak menghasilkan produk netral seperti *asetonin*.

Uji Simon-sitrat bertujuan mendeteksi kemampuan suatu organisme untuk memanfaatkan sebagai satu-satunya sumber karbon dan energi. Jika bakteri mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya maka akan menaikkan pH dan mengubah warna medium biakan dari hijau menjadi biru. Sitrat merupakan salah satu komponen utama dalam siklus Krebs yang merupakan hasil reaksi antara asetil koenzim A (CoA) dengan asam oksaloasetat (4C). Sitrat dibuat oleh enzim sitrase yang menghasilkan asam oksaloasetat dan asetat kemudian melalui proses enzimatik diubah menjadi asam piruvat dan karbon dioksida. Selama reaksi tersebut medium menjadi bersifat alkali (basa) karena karbondioksida yang berikatan dengan sodium (Na) dan air (H₂O) membentuk sodium karbonat (Na₂CO₃). Adanya sodium karbonat inilah yang akan mengubah indikator bromthymol blue pada medium menyebabkan medium berubah warna dari hijau menjadi biru tua (biru prusia) (Cappuccino & Sherman, 2014). Hasil pengamatan untuk uji SS ini terdapat beberapa isolat bakteri yang positif diantaranya yakni : *Mycobacterium* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp., dan *Lactobacillus fermenti*.

Uji TSIA (*Tryptic Sugar Iron Agar*) bertujuan untuk membedakan jenis bakteri berdasarkan kemampuan memecahkan glukosa, laktosa dan sukrosa. Selain itu, uji TSIA berfungsi mengetahui apakah bakteri tersebut menghasilkan gas H₂S atau tidak (Holt *et al*, 2000). Pada uji ini didapatkan beberapa isolat bakteri yang menghasilkan gas yakni *Mycobacterium* sp. dan *Lactobacillus fermenti* tetapi keseluruhan isolat bakteri yang ditemukan tidak dapat menghasilkan H₂S.

Pada Uji SIM (Sulfide, Indole, Motility) digunakan agar *Sulfide Indole Motility* (SIM) dimana agar SIM mengandung pepton dan natrium tiosulfat sebagai substrat sulfur, fero sulfat, yang berperan sebagai indikator H₂S dan agar secukupnya untuk menghasilkan media

yang semisolid sehingga menghasilkan respirasi anaerob (Cappuccino & Sherman, 2014). Media ini mengandung substrat triptofan. Keberadaan indol dapat dideteksi dengan penambahan reagen kovac, yang akan menghasilkan suatu lapisan pereaksi berwarna merah ceri. Selain itu uji *Sulfide Indole Motility* (SIM) bertujuan mengetahui pergerakan bakteri. Hasil positif ditandai dengan pertumbuhan bakteri yang menyebar, maka bakteri tersebut dinyatakan bergerak (motil) dan bila pertumbuhan bakteri tidak menyebar, hanya yang didapatkan berupa satu garis, maka bakteri tersebut tidak bergerak (non motil) (Sudarsono, 2008 dalam Amiruddin, Darniati and & 2017). Pada penelitian ini, semua isolat bakteri yang ditemukan positif pada uji SIM yang berarti semua isolat bakteri merupakan bakteri motil atau bergerak.

Katalase adalah enzim yang mengkatalisasikan penguraian hydrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan O_2 . Hydrogen peroksida bersifat toksik terhadap sel karena bahan ini menginaktivasikan enzim dalam sel. Hydrogen peroksida terbentuk sewaktu metabolisme aerob, sehingga mikroorganisme yang tumbuh dalam lingkungan aerob harus menguraikan bahan toksik tersebut. Katalase adalah salah satu enzim yang digunakan mikroorganisme untuk menguraikan hydrogen peroksida, enzim lainnya yang dapat menguraikan hydrogen peroksida adalah peroksidase. Sutiamiharja (2008) menyatakan bahwa uji katalase membuktikan adanya enzim katalase dari isolat yang mampu mengurai H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 . Pada uji katalase ini, terdapat beberapa isolat bakteri yang terbukti positif dengan adanya gelembung yang dibentuk yakni : *Mircrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Bacillus* sp., *Neisseria* sp. dan *Veillonella* sp.

Uji oksidase dilakukan dengan menginokulasikan isolat ke oxidase strip, pengamatan dilakukan beberapa menit hingga terjadi perubahan warna, reaksi positif apabila terjadi perubahan warna biru pada kertas oxidase strip. Uji Oksidase berfungsi untuk menentukan adanya oksidase sitokorm yang ditemukan pada mikroorganisme tertentu (Antriana, 2014).

Berdasarkan hasil praktikum, didapatkan 11 isolat bakteri yang termasuk kedalam beberapa genus, diantaranya yakni : *Mycobacterium* sp., *Bacillus* sp., *Mircrococcus* sp., *Staphylococcus* sp., *Vibrio* sp., *Aeromonas* sp., *Streptococcus* sp., *Enterococcus* sp., *Lactobacillus fermenti*, *Neisseria* sp., dan *Veillonella* sp. Hal tersebut didukung oleh Lee and Jiyoung (2015) yang menyatakan bahwa pada penanaman system hidroponik terdapat beberapa bakteri potensial yang hidup diantaranya yakni : *Pseudomonas* Sp. *Bacillus* Sp. *Enterobacter* Sp. dan *Streptomyces* Sp., bakteri tersebut ditemukan pada beberapa tanaman yang ditumbuhkan pada system hidroponik seperti kedelai, timun, cabai, wortel, tomat dan selada. Studi oleh Mano *et al* (2007) menunjukkan bakteri endofit yang dapat dikultur

pada tanaman padi Terdapat bakteri endofitik terkait dengan *Bacillus*, *Curtobacterium*, *Methylobacterium*, *Sphingomonas* dan *Pantoea* terisolasi dari daun, dan *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Mycobacterium*, *Enterobacter*, dan *Chryseobacterium* terisolasi dari akar .

Selain itu, Purwaningsih (2008) menyebutkan bahwa bakteri yang berperan sebagai pelarut fosfat pada tanah telah banyak ditemukan, diantaranya berasal dari genus *Pseudomonas*, *Micrococcus*, *Bacillus*, *Azetobacter*, *Mycrobacterium*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, dan *Flovobacterium*. *Neisseria Sp.*, *Bacillus* dan *Streptococcus* ditemukan pada vegetasi *Avicennia alba*. *Staphylococcus sp.*, *Bacillus sp.* dan *Aeromonas* terdapat pada vegetasi tanaman mangrove *Sonneratia alba*, bakteri-bakteri tersebut merupakan bakteri yang berperan dalam proses dekomposisi seresah daun mangrove (Yulma, *et.al.*, 2017)

Selain beberapa bakteri potensial yang didapatkan terdapat juga bakteri patogen seperti *Vibrio sp.* dan *Aeromonas sp.* Beberapa strain *Vibrio spp.* tersebar secara luas di lingkungan air dan memiliki efek toksik pada organisme akuatik dan beberapa jenis *Vibrio spp.* juga menemukan patogen terhadap tanaman (WHO, 2011). *Aeromonas spp.* biasanya dapat ditemukan pada lingkungan tanah dan air.

5.5 Hasil Uji Potensi Kemampuan Fiksasi Nitrogen

Setelah melakukan uji biokimia dan identifikasi bakteri, isolat bakteri yang telah teridentifikasi kemudian diremajakan kembali. Lalu, ke-11 isolat bakteri diuji potensifikasi nitrogennya dengan menumbuhkan pada medium NFB selama satu minggu. Hasil uji potensi fiksasi nitrogen dari 11 isolat tertera pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Potensi Kemampuan Fiksasi Nitrogen Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

No	Kode Isolat	Hasil Uji Potensi Fiksasi Nitrogen
1.	NA1	-
2.	NA2	-
3.	NA4	-
4.	NA6	-
5.	PDA2	-
6.	PDA3	-
7.	PDA4	-
8.	LB1	-

9.	LB2	-
10.	LB3	-
11.	LB4	-

Keterangan :

Hasil positif (+) apabila medium berubah menjadi warna biru dan terbentuk cincin pada permukaan medium.

Berdasarkan hasil praktikum, 11 isolat terpilih tidak memiliki kemampuan untuk fiksasi nitrogen, namun memiliki kemampuan dalam memproduksi hormon IAA. Hal ini disebabkan setiap bakteri dalam memacu pertumbuhan tanaman dapat melalui banyak mekanisme seperti fiksasi N₂, kontrol stres tanaman, ekstraksi nutrisi dari tanah, anti patogen, produksi berbagai jenis hormon tanaman dan kontrol biologis (Lugtenberg dan Kamilova, 2009). Pada item hidroponik kecukupan nutrisi sudah disediakan oleh larutan nutrisi yang ditambahkan pada sirkulasi media tanam, sehingga adanya bakteri pada sistem perakaran berperan dalam hal melindungi tanaman dari patogen dan produksi hormon pertumbuhan tanaman. Secara umum, bakteri dapat berkembang dengan cepat setelah menanam tanaman dalam sistem hidroponik dan eksudat, senyawa dalam larutan nutrisi, dan bahan tanaman yang mati (Waechter-Kristensen et al., 1996). Komposisi bakteri dalam sistem hidroponik dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan sumber nutrisi (Khalil dan Alsanius, 2001).

Beberapa bakteri dapat menjadi patogen tanaman, tetapi patogen umumnya jumlahnya lebih sedikit dibandingkan populasi organisme non- patogen (Khalil et al., 2001). Beberapa kelompok bakteri yang telah ditemukan pada sistem hidroponik diantaranya dari genus *Bacillus amyloliquefaciens*, *cereus*, *subtilis*, *thuringiensis* ditemukan pada hidroponik tanaman timun, wortel, selada, dan tomat (Chinta et al., 2014), *Enterobacter Aerogenes* ditemukan pada hidroponik tanaman timun (Utkhede et al., 1999), dan *Streptomyces Griseoviridis* ditemukan pada hidroponik tanaman timun dan tomat (Khalil and Alsanius, 2010).

Genus *Bacillus* ditemukan pada hasil praktikum. Mekanisme genus *Bacillus* spp. dalam memacu pertumbuhan tanaman dan menghasilkan antibiotik terhadap fitopatogen belum banyak diketahui (Nihorimbere et al., 2012). Seperti *Bacillus subtilis* adalah bakteri Gram-positif, mampu memacu pertumbuhan tanaman dengan kemampuan meningkatkan konsentrasi air atau larutan nutrisi dengan konsentrasi salinitas tinggi (Bochow 1992; Böhme, 1999). *Bacillus amyloliquefaciens* meningkatkan efisiensi penggunaan air dalam tomat, bersama dengan kualitas (vitamin C lebih tinggi daripada kelompok kontrol) dan kuantitas (8-9%) (Gület al., 2008). *Bacillus licheniformis* telah meningkatkan diameter dan

berat tomat dan paprika, dan meningkatkan hasil panen yang lebih tinggi dari masing-masing tanaman (García et al., 2004). Selain genus bakteri yang bermanfaat, beberapa genus yang ditemukan diduga tidak memberikan manfaat atau bahkan bersifat sebagai patogen pada sistem hidroponik. Genus bakteri tersebut diantaranya genus yang diduga *Vibrio* sp. dan *Aeromonas* sp. Beberapa strain *Vibrio* spp. tersebar secara luas di lingkungan air dan memiliki efek toksik pada organisme akuatik dan beberapa jenis *Vibrio* spp. juga menemukan patogen terhadap tanaman (WHO, 2011). *Aeromonas* spp. biasanya dapat ditemukan pada lingkungan tanah dan air.

5.6 Hasil Uji Potensi Produksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Setelah melakukan uji potensi kemampuan fiksasi nitrogen, dilanjutkan dengan menguji potensi dalam produksi IAA menggunakan medium LB selama satu minggu. Hasil uji potensi produksi IAA secara kualitatif dari 11 isolat tertera pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Kualitatif Uji Potensi Produksi IAA Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

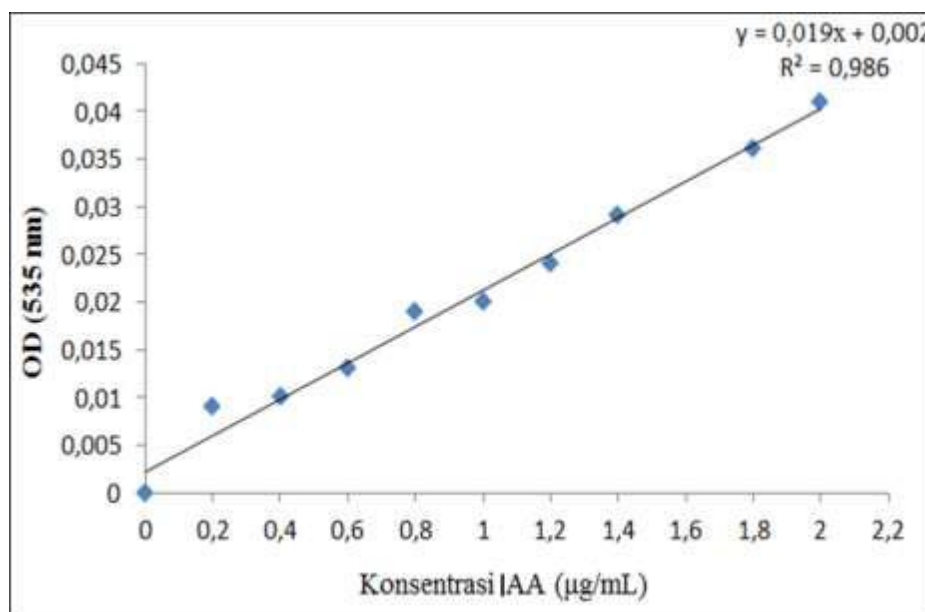
No.	Kode Isolat	Hasil Uji Produksi IAA	Absorbansi (λ 535 nm)
		Blanko	0,00
1.	NA1	+	0,35
2.	NA2	+	0,09
3.	NA4	+	0,09

4.	NA6	+	0,36
5.	PDA2	+	0,37
6.	PDA3	+	0,34
7.	PDA4	+	0,28
8.	LB1	+	0,08
9.	LB2	+	0,42
10.	LB3	+	0,30
11.	LB4	+	0,08

Keterangan :

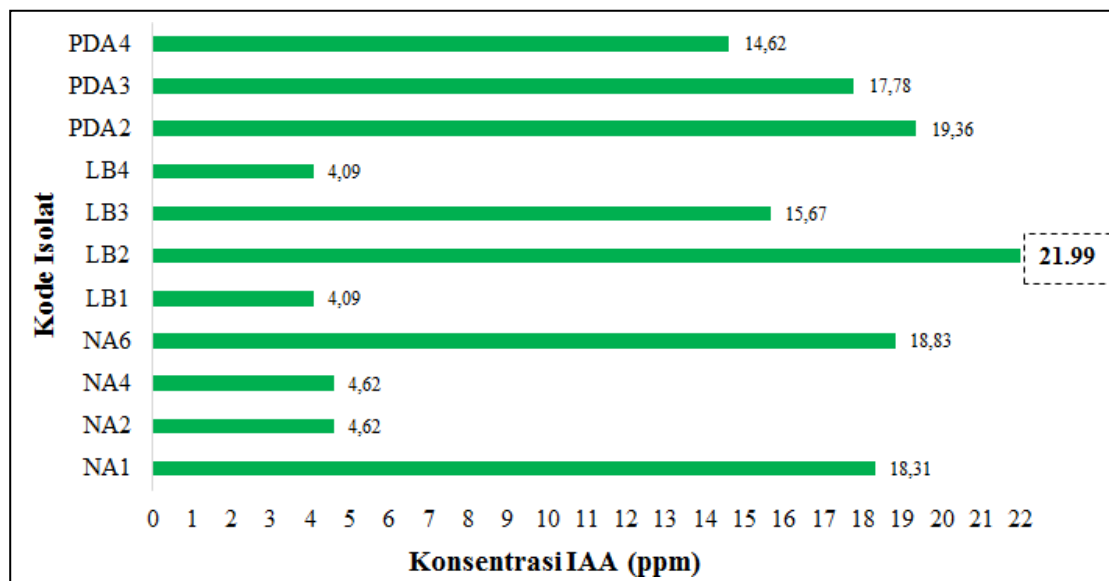
Hasil positif (+) apabila terjadi perubahan warna menjadi merah muda.

Setelah didapatkan hasil uji potensi produksi IAA secara kualitatif, dilanjutkan dengan hasil kuantitatif dengan pembuatan kurva standar IAA. Kurva standar IAA dari 11 isolat tertera pada Gambar 1.



Gambar 11. Kurva standar IAA Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica chinensis*)

Setelah dikonversi dengan rumus persamaan kurva standar IAA diatas, didapatkan konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh isolat LB2 dengan 21,99 ppm. Produksi IAA seluruh isolat dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Konsentrasi IAA Isolat dari *Rockwool* Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassicachinensis*)

Berdasarkan hasil praktikum, 11 isolat mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi berkisar 4,09 – 21,99 ppm. Isolat LB2 menghasilkan IAA dengan konsentrasi tertinggi yaitu 21,99 ppm. Isolat LB2 memiliki kemiripan dengan spesies *Lactobacillus fermentii*. Pada beberapa penelitian, telah dilaporkan bahwa kelompok bakteri asam laktat memiliki aktivitas untuk memacu pertumbuhan tanaman. *Lactobacillus casei* dapat menghasilkan IAA mencapai 2 ppm pada media LB dengan penambahan triptofan, sedangkan pada media YMD tanpa penambahan triptofan mampu menghasilkan IAA hingga 40 ppm (Mohite., 2013). Bakteri penghasil IAA telah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Ini termasuk genera *Agrobacterium*, *Burkholderia*, *Bacillus*, *Erwinia*, *Flavobacterium*, *Pantoea*, *Pseudomonas* (Tsavkelova et al. 2007a), *Microbacterium*, *Mycobacterium*, *Rhizobium*, dan *Sphingomonas* (Tsavkelova et al. 2007b), termasuk *Enterobacter* (Ghosh et al. 2015). Strain *Vibrio* spp. diisolasi dari akar rumput estuarine menghasilkan phytohormone indole-3-acetic acid (IAA) (Gutierrez et al., 2009). Beberapa spesies dari genus *Aeromonas* yang diisolasi dari tanaman padi mampu menghasilkan IAA hingga mencapai 30 ppm (Susilowati et al., 2015).

Berdasarkan hasil isolasi dan uji potensi bakteri yang diisolasi dari *rockwool* tanaman sawi hidroponik diketahui bahwa beberapa genus seperti *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Lactobacillus* berpotensi sebagai kandidat bakteri yang mampu memacu pertumbuhan tanaman melalui kemampuan produksi IAA dan kemampuan berkolonisasi ada lingkungan hidroponik sebagai mikroflora. Peranan bakteri tersebut terkait kemampuan melawan patogen yang sering menjadi kendala pada system tanam hidroponik perlu diketahui sehingga diperoleh bakteri yang unggul untuk memacu pertumbuhan tanaman pada sitem hidroponik.

BAB 6
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

6.1 Rencana jangka Pendek

6.2 Saran

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan praktikum Teknik Analisis Bakteri dengan judul Isolasi Bakteri dari Rockwool Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.). Hasil penelitian ini didapatkan bakteri yang berhasil diisolasi dengan media NA adalah $6,4 \times 10^6$, media PDA adalah $1,5 \times 10^6$, media LB adalah $6,5 \times 10^6$. Jumlah isolat yang didapatkan sebanyak 16, dikarakterisasi morfologi makroskopis meliputi bentuk, tepian, elevasi, ukuran, tekstur, appearance, warna, dan optical property. Sebanyak 12 isolat yang dapat disimpan memiliki karakter mikroskopis berbentuk basil gram positif (kode isolate NA1, NA2, NA6, PDA3, PDA4, LB2, LB3), basil gram negatif (kode isolate PDA2), Coccus gram positif (kode isolate NA3, NA4, LB1), Coccus gram negatif (kode isolate LB4) dengan ukuran berkisar antara 1 - $4\mu\text{m}$, beberapa isolate memiliki endospora. Berdasarkan uji biokimia, kode isolat NA1, NA6, PDA3, LB3 (~) *Mycobacterium* sp., kode isolat NA2, PDA4 (~) *Bacillus* sp., kode isolat NA4 (~) *Micrococcus* sp./ *Staphylococcus* sp., kode isolat PDA2 (~) *Vibrio* sp./ *Aeromonas* sp., kode isolat LB1 (~) *Streptococcus* sp./ *Enterococcus* sp., kode isolat LB2 (~) *Lactobacillus fermenti*, kode isolat LB4 (~) *Neisseria* sp./ *Veillonella* sp. Semua isolat tidak memiliki kemampuan memfiksasi nitrogen. Namun, semua isolat mampu memproduksi hormon IAA, dengan konsentrasi IAA tertinggi dihasilkan oleh isolate LB2 sebanyak 21,99 ppm.

(~) = memiliki kedekatan dengan genus

7.2 Saran

Kepada tenaga laboratorium diharapkan untuk memperhatikan tiap proses dalam melakukan penanaman, perhitungan, pewarnaan serta pemurnian bakteri

DAFTAR PUSTAKA

- Alexander, S. K., Strete, D., Niles, M. J. 2003. *Lab Exercises in Organismal and Molecular Microbiology*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Amiruddin, R., R. Darniati, Ismail. 2017. Isolasi dan Identifikasi *Salmonella* sp. pada Ayam Bakar di Rumah Makan Kecamatan Syiah Kuala Kota Banda Aceh. *Jimvet*. 1(3): 265-274.
- Antriana, N. 2014. Isolasi Bakteri Asal Saluran Pencernaan Rayap Pekerja (*Macrotermes* spp.). *Saintifika*. 16 (1): 18-28.
- Bartelme RP, Oyserman BO, Blom JE, Sepulveda-Villet OJ, Newton RJ. 2018. Stripping away the soil: plant growth promoting microbiology opportunities in aquaponics. *Front Microbiol* 9:8.8.
- Benson, H. J. 2001. *Microbiological Applications Lab Manual, Eighth Edition*. New York: The McGraw-Hill Companies.
- Berkelmann, B., Wohanka, W. & Wolf, G.A. 1994. Characterization of the bacterial flora in circulating nutrient solutions of a hydroponic system with rockwool. *Acta Horticulturae*, 361, pp. 372-381.
- Cappucino, J. G., & Sherman, N., 2014, *Manual Laboratorium Mikrobiologi, Edisi 8*. Jakarta, EGC.
- Calvo P, Nelson L, Kloepper JW. 2014. Agricultural uses of plant biostimulants. *Plant Soil* 383:3–41.
- Chatterton, S., Sutton, J.C., Boland, G.J., 2004. Timing *Pseudomonas chlororaphis* applications to control *Pythium aphanidermatum*, *Pythium dissotocum*, and Rootrot in Hydroponic Peppers. *Biol. Control*. 30: 360–373.
- Chen LL. 2006. Identification of genomic islands in six plant pathogens. *Gene*; 374: 134-141.
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clément C, Barka EA. 2005. Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl Environ Microbiol* 71:4951–4959.
- Dasgan HY, Aydoner G, AkyolM. 2012. *Use of some microorganisms as bio-fertilizers in soilless grown squash for saving chemical nutrients*. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, pp 155–162.
- Dwi N. Susilowati, I M. Sudianac, N.R. Mubarika and A. Suwantoa. 2011. Species And Functional Diversity Of Rhizobacteria Of Rice Plant In The Coastal Soils Of Indonesia, *Indonesian Journal of Agriculture Science*. 6(1) : 39 – 50.

- Dwidjoseputro, D. 2003. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Jakarta: Djembatan.
- Fardiaz. 2004. *Analisa Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Ghosh PK, Sen SK, Maiti TK., 2015, Production and metabolism of IAA by *Enterobacter* spp. (Gamma proteobacteria) isolated from root nodules of a legume *Abrus precatorius* L. *Biocatal Agric Biotechnol*, 4:296–303.
- Gutierrez CK, Matsui GY, Lincoln DE, Lovell CR., 2009, Production of the phytohormone indole-3-acetic acid by estuarine species of the genus *Vibrio*, *Appl Environ Microbiol*. 75(8): 2253-8.
- Holt, J.G., and N.R. Krieg. 2000. *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*. 9th Edition. Lippincott Williams and Wilkins. USA: A Wolters Kluwer Company.
- Jayaram, M. and Nagao, H. 2018. Potato Dextrose Agar With Rose-Bengal and Chloramphenicol: A New Culture Medium to Isolate Pathogenic *Exophiala dermatitidis* From the Environment. *Klimik Dergisi*. 31(1): 11-5
- Lee S, Lee J. 2015. Beneficial bacteria and fungi in hydroponic systems: types and characteristics of hydroponic food production methods . *Sci Hortic* 195:206–215.
- Li, M., Ishiguro, Y., Otsubo, K., Suzuki, H., Tsuji, T., Miyake, N., Nagai, H., Suga, H., Kageyama, K., 2014. Monitoring by real-time PCR of three water-borne zoospore-producing *Pythium* species in potted flower and tomato greenhouses under hydroponic culture systems. *Eur. J. Plant Pathol*. 140 (2): 229–242.
- Koohakan, P., Ikeda, H., Jeanaksorn, T., Tojo, M., Kusakari, S.I., Okada, K. and Sato, S. 2004. Evaluation of the Indigenous Microorganisms in Soilless Culture: Occurrence and Quantitative Characteristics in the Different Growing Systems. *Scientia Horticulturae*. 101: 179-188.
- Mano, H., Tanaka, F., Nakamura, C., Kaga, H., Morisaki, H. 2007. Culturable Endophytic Bacterial Flora of the Maturing Leaves and Roots of Rice Plants (*Oryza sativa*) Cultivated in a Paddy Field. *Microbes and Environments* 22 (2): 175-185.
- Mohamad, N. A., Jusoh, N. A., Htike, Z. Z., and Win, S. L. 2014. Bacteria Identification From Microscopic Morphology: A Survey. *International Journal on Soft Computing, Artificial Intelligence and Applications (IJSCAI)*. 3 (2): 1-12.
- Mohite B., 2013, Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3):638-649.
- Nakhchian, H., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A., and Mohebbi, M. 2014. Isolation, Identification and Growth's Comparison of Mold Types In A Cake Factory Environment And Final Products. *Int. J. Adv. Biol. Biom. Res.* 2 (8): 2505-2517.

- Nihorimbere, V., Cawoy, H., Seyer, A., Brunelle, A., Thonart, P., Ongena, M., 2012. Impact of rhizosphere factors on cyclic lipopeptide signature from the plant beneficial strain *Bacillus amyloliquefaciens* S499. *FEMS Microbiol. Ecol.* 79,176–191.
- Oktari, A., Supriatin, Y., Kamal, M., and Syafrullah, H. 2017. The Bacterial Endospore Stain on Schaeffer Fulton using Variation of Methylene Blue Solution. *IOP Conf. Series: Journal of Physics: Conf. Series.* 1-5.
- Orbit Biotech. 2018. *Isolation of Bacterial Cultures.* <https://orbitbiotech.com/isolation-of-bacterial-cultures-pure-culture-bacterial-culture-serial-dilution-spread-plate-streak-plate/>
- Postma, J., Van Os, E.A. & Bonants, P.J.M. 2008. Pathogen detection and management strategies in soilless plant growing systems. In: Raviv, M. & Lieth, J.H. (eds) *Soilless culture - theory and practice.* USA: Elsevier BV, pp. 425-458.
- Prescott, Harley. 2002. *Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition.* New York: The McGraw-Hill Companies.
- Pukhrambam, N. 2019. Comparison of Original Gram Stain and Its Modification in the Gingival Plaque Samples. *J Bacteriol Mycol Open Access.* 7(1): 1–3.
- PureCulture, 2010, Isolasi Bakteri Termofilik Dari Sumber Mata Air Songgoriti, ITS, Surabaya.
- Raaijmakers, J.M., de Bruijn, I., Nybroe, O., Ongena, M., 2010. Natural functions of lipopeptides from *Bacillus* and *Pseudomonas*: more than surfactants and antibiotics. *FEMS Microbiol. Rev.* 34, 1037–1062.
- Ravimannan, N., Arulanantham, R., Pathmanathan, S., and Niranjana, K. 2014. Alternative Culture Media for Fungal Growth Using Different Formulation of Protein Sources. *Annals of Biological Research.* 5 (1):36-39.
- Ruzzi M, Aroca R (2015) Plant growth-promoting rhizobacteria act as biostimulants in horticulture. *Sci Hort* 196:124–134.
- Sarudu, N. H., Selaman, O. S., Bains, R. and Rosli, N. A. 2015. Evaluation on Factors Affecting Bacteria Growth in Collected Rainwater. *Journal of Civil Engineering, Science and Technology.* 6 (2): 1-7.
- SGM. 2006. *Basic Practical Microbiology: A Manual.* UK: SGM Department Education.
- Susila, A. D. (2013). *Sistem hidroponik.* Departemen Agronomi dan Hortikultura Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Bogor.

- Sutiamiharja, N. 2008. Isolasi Bakteri dan Uji Aktivitas Amilase Kasar Termofilik dari Sumber Air Panas Guruknayan Karo Sumatra Utara. *Tesis*. Medan: Pascasarjana Universitas Sumatra Utara.
- Tsavkelova EA, Cherdyntseva TA, Botina SG, Netrusov AI., 2007a, Bacteria associated with orchid roots and microbial production of auxin. *Microbiol Res.* 2007;162:69–76.
- Tsavkelova EA, Cherdyntseva TA, Klimova SY, Shestakov AI, Botina SG, Netrusov AI., 2007b, Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin. *Arch Microbiol.* 2007;188:655–664.
- Waechter-Kristensen, B., Gertsson, U.E. & Sundin, P. 1994. Prospects for microbial stabilization in the hydroponic culture of tomato using circulating nutrient solution. *Acta Horticulturae*, 361, pp. 382-387.
- Weller T. 2005. *The Best of The Growing Edge International, 2000-2005: Select Cream-of-the-crop Articles for Soilless Growers*. Duluth: New Moon Publishing. 2005; 338-340.
- World Health Organization (WHO). 2011. *Guidelines for Drinking-Water Quality*.1-564.
- Yulma, Burhanuddin, I., Sunarti., Eka, M., Neny, W., dan Mursyban. 2017. Identifikasi Bakteri pada Serasah Daun Mangrove yang Terdekomposisi di Kawasan Konservasi Mangrove dan Bekantan (KKMB) Kota Tarakan. *J.Trop Biodiv. Biotech.* Vol. 2. 28

2. Jadwal Kegiatan

NO	KEGIATAN	APRIL	MEI				JUNI		
		MINGGU							
		3	1	2	3	4	1	2	
1	Mengadakan pertemuan awal antara ketua dan tim pembantu peneliti								
2	Menetapkan rencana jadwal kerja dan Menetapkan pembagian kerja								
3	Menetapkan desain penelitian dan Menentukan instrument penelitian								
4	Menyusun proposal dan Mengurus perijinan penelitian								
5	Melakukan persiapan penelitian								
6	Melakukan Penelitian								
7	Membuat laporan								



SURAT TUGAS

Nomor: 107/TGS/IL.3.AU/LPPM/F/2021

Assalaamu'alaikum Wr. Wb.

Yang bertandatangan di bawah ini:

Nama : Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
Jabatan : Kepala LPPM
Unit Kerja : LPPM Universitas Muhammadiyah Surabaya

Dengan ini menugaskan:

No	Nama	NIDN/NIM	Jabatan
1.	Vella Rohmayani, S.Pd.,M.Si	0720059202	Dosen UMSurabaya
2.	Anindita Riesti Retno Arimurti, S.Si., M.Si.	0705048903	Dosen UMSurabaya
3.	Nurhidayatullah Romadhon S.Pd., M.Si	-	Dosen UMSurabaya
4.	Ira Ayu Ashari	20200667012	Mahasiswa UMSurabaya
5.	Anis Lailatul Fitriyah	20200667013	Mahasiswa UMSurabaya

Untuk melaksanakan penelitian kepada masyarakat dengan judul "Uji Potensi Mikroba dari Rockwool Hidroponik Tanaman Sawi (*Brassica rapa* L.) sebagai pupuk Biofertilizer Tanaman Hidroponik". Penelitian ini dilaksanakan di Program Studi Sarjana Terapan Teklogi Laboratorium Medis Fakultas Ilmu Kesehatan UMSurabaya pada semester tahun akademik 2021-2022

Demikian surat tugas ini, harap menjadikan periksa dan dapat dilaksanakan dengan penuh tanggung jawab.

Wassalaamu'alaikum Wr. Wb

Surabaya, 08 March 2021

LPPM UMSurabaya



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIP. 012.05.1.1987.14.113



Surat Kontrak Penelitian Internal
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT (LPPM)
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA
Nomor: 107/SP/IL.3.AU/LPPM/F/2021

Pada hari ini **Senin** tanggal **Delapan** bulan **Maret** tahun **Dua Ribu Dua Puluh Satu**, kami yang bertandatangan dibawah ini :

1. Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep. : Kepala LPPM UMSurabaya yang bertindak atas nama Rektor UMSurabaya dalam surat perjanjian ini disebut sebagai **PIHAK PERTAMA**;
2. Vella Rohmayani, S.Pd.,M.Si : Dosen UM Surabaya, yang selanjutnya disebut **PIHAK KEDUA**.

untuk bersepakat dalam pendanaan dan pelaksanaan program penelitian:

Judul : Uji Potensi Mikroba dari Rockwoll Hidroponik Tanaman Sawi (Brassica rapa L.) sebagai pupuk Biofertilizer Tanaman Hidroponik

Anggota : 1. Anindita Riesti Retno Arimurti, S.Si., M.Si.
2. Nurhidayatullah Romadhon S.Pd., M.Si
3. Ira Ayu Ashari
4. Anis Lailatul Fitriyah

dengan ketentuan-ketentuan sebagai berikut:

1. **PIHAK PERTAMA** menyetujui pendanaan dan memberikan tugas kepada **PIHAK KEDUA** untuk melaksanakan program penelitian perguruan tinggi tahun 2021
2. **PIHAK KEDUA** menjamin keaslian penelitian yang diajukan dan tidak pernah mendapatkan pendanaan dari pihak lain sebelumnya.
3. **PIHAK KEDUA** bertanggungjawab secara penuh pada seluruh tahapan pelaksanaan penelitian dan penggunaan dana hibah serta melaporkannya secara berkala kepada **PIHAK PERTAMA**.
4. **PIHAK KEDUA** berkewajiban memberikan laporan kegiatan penelitiandari awal sampai akhir pelaksanaan penelitian kepada LPPM selaku **PIHAK PERTAMA**.
5. **PIHAK KEDUA** berkewajiban menyelesaikan urusan pajak sesuai kebijakan yang berlaku.
6. **PIHAK PERTAMA** akan mengirimkan dana hibah penelitian internal sebesar Rp10.115.000 (Sepuluh Juta Seratus Limabelas Ribu Rupiah) ke rekening ketua pelaksana penelitian.

7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggung jawaban adalah:
 - a. menyerahkan Laporan Hasil penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
 - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.
8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditanda tangani dengan nilai dan kekuatan yang sama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIK. 012.05.1.1987.14.113

Pihak Kedua

Vella Rohmayani, S.Pd., M.Si
NIDN. 0720059202



7. Adapun dokumen yang wajib diberikan oleh **PIHAK KEDUA** sebagai laporan pertanggung jawaban adalah:
 - a. menyerahkan Laporan Hasil penelitian selambat-lambatnya satu minggu setelah kegiatan usai dilaksanakan
 - b. Memberikan naskah publikasi dan/atau luaran sesuai dengan ketentuan.
8. Jika dikemudian hari terjadi perselisihan yang bersumber dari perjanjian ini, maka **PIHAK PERTAMA** berhak mengambil sikap secara musyawarah.

Surat Kontrak Penelitian ini dibuat rangkap 2 (dua) bermaterai cukup, dan ditanda tangani dengan nilai dan kekuatan yang sama

Pihak Pertama



Dede Nasrullah, S.Kep., Ns., M.Kep
NIK. 012.05.1.1987.14.113

Pihak Kedua



Vella Rohmayani, S.Pd., M.Si
NIDN. 0720059202



KUITANSI

Sudah terima dari : Bendahara LPPM
Uang sebesar : Sepuluh Juta Seratus Limabelas Ribu Rupiah(dengan huruf)
Untuk pembayaran : Pelaksanaan penelitian dengan pendanaan Internal

Rp10.115.000

Surabaya, 08 March 2021

Bendahara LPPM,
Universitas Muhammadiyah Surabaya

Holy Ichda Wahyuni

Ketua Penelitian

Vella Rohmayani, S.Pd.,M.Si