

Peningkatan kemantapan agregat tanah mineral oleh bakteri penghasil eksopolisakarida

Aggregate stability improvement of mineral soil by exopolysaccharide-producing bacteria

Laksmita Prima SANTI¹⁾, Ai DARIAH²⁾ & Didiek Hadjar GOENADI¹⁾

¹⁾ Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor 16151, Indonesia

²⁾ Balai Penelitian Tanah, Bogor, Indonesia

Summary

Pseudomonas fluorescens PG7II.1, Flavobacterium sp. PG7II.2, and Pseudomonas diminuta PG7II.9 have a potential to produce exopolysaccharide which help the formation and stabilization of soil aggregate. These bacteria have been isolated from the rhizosphere of Saccharum officinarum. Exopolysaccharide production in ATCC 14 liquid medium with sucrose was higher than that obtained from glucose, lactose, and 4-hydroxyphenil acetic acid (4-HAA) as a carbon sources. Producing of exopolysaccharide from these bacteria were 8.04 (P. fluorescens PG7II.1), 2.0 (Flavobacterium sp. PG7II.2) and 1.82 mg/mL (P. diminuta PG7II.9). Aggregate Stability Index (ASI) of mineral soil material was 114 when inoculated by these isolates after 60 days incubation period at ambient temperature. The ASI value of inoculated mineral soil material significantly different with uninoculated. The optimum of bacterial suspension to increase aggregate stability of mineral soil material was 12.5% (v/w) consisted of 10⁹ CFU per mL.

[Key word: Exopolysaccharide, soil aggregate Flavobacterium sp. P. fluorescens, Aggregate Stability-Index]

Ringkasan

Pseudomonas fluorescens PG7II.1, Flavobacterium sp. PG7II.2, dan Pseudomonas diminuta PG7II.9, memiliki potensi dalam

menghasilkan eksopolisakarida untuk pembentukan dan kemantapan agregat tanah. Ketiga bakteri tersebut diisolasi dari rhizosfer *Saccharum officinarum*. Sukrosa merupakan sumber karbon terbaik untuk produksi eksopolisakarida di dalam medium cair ATCC 14 apabila dibandingkan dengan glukosa, laktosa, dan 4-hydroxyphenil acetic acid (4-HAA). Eksopolisakarida yang dihasilkan dari ketiga bakteri tersebut masing-masing 8,04 (*P. fluorescens* PG7II.1); 2,0 (*Flavobacterium* sp. PG7II.2) dan 1,82 mg/mL (*P. diminuta* PG7II.9). Inokulasi ketiga isolat tersebut ke dalam bahan tanah mineral memberikan indeks stabilitas agregat (ASI) sebesar 114 setelah 60 hari inkubasi pada suhu ruang. Nilai indeks ini berbeda secara nyata apabila dibandingkan dengan bahan tanah mineral tanpa inokulan. Jumlah suspensi bakteri yang diperlukan untuk meningkatkan nilai indeks stabilitas agregat di dalam bahan tanah mineral secara optimum ialah 12,5% (v/b), dengan jumlah populasi bakteri 10⁹ CFU per mL.

Pendahuluan

Kemantapan agregat sangat penting bagi tanah pertanian dan perkebunan. Agregat yang stabil akan menciptakan kondisi yang baik bagi pertumbuhan tanaman. Agregat dapat menciptakan lingkungan fisik yang baik untuk perkembangan akar tanaman melalui pengaruhnya terhadap porositas, aerasi dan daya menahan air. Pada tanah yang agregatnya,

kurang stabil bila terkena gangguan maka agregat tanah tersebut akan mudah hancur. Butir-butir halus hasil hancuran akan menghambat pori-pori tanah sehingga bobot isi tanah meningkat, aerasi buruk dan permeabilitas menjadi lambat. Kemantapan agregat juga sangat menentukan tingkat kepekaan tanah terhadap erosi. Kemampuan agregat untuk bertahan dari gaya perusak dari luar (stabilitas) dapat ditentukan secara kuantitatif melalui *Aggregate Stability Index (ASI)*. Indeks ini merupakan penilaian secara kuantitatif terhadap kemantapan agregat.

Faktor-faktor yang mempengaruhi kemantapan agregat antara lain pengolahan tanah, aktivitas mikroorganisme tanah, dan penutupan tajuk tanaman pada permukaan tanah yang dapat menghindari *splash erosion* akibat curah hujan tinggi. Agregat tanah terbentuk karena proses flokulasi dan fragmentasi. Flokulasi terjadi jika partikel tanah yang pada awalnya dalam keadaan terdispersi, kemudian bergabung membentuk agregat. Sedangkan fragmentasi terjadi jika tanah dalam keadaan masif, kemudian terpecah-pecah membentuk agregat yang lebih kecil. Kemper & Rosenau (1986) mengatakan bahwa makin stabil suatu agregat tanah, makin rendah kepekaannya terhadap erosi (erodibilitas tanah).

Akar tanaman memberikan kontribusi terhadap kelimpahan bahan organik tanah dan kemantapan agregat tanah secara langsung melalui material akar tersebut dan secara tidak langsung melalui stimulasi aktivitas mikroorganisme di daerah sekitar perakaran (Watt *et al.*, 1993). Adapun agensia organik yang dapat meningkatkan kemantapan agregat tanah ialah produk dekomposisi biomas, eksopolisakarida (EPS) asal bakteri, miselium fungi, dan produk hasil sintesis tanaman.

Azotobacter vinelandii, *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, dan *P. putida* menghasilkan beberapa jenis polisakarida penting. Polisakarida tersebut antara lain polisakarida ekstraselular, kapsular, dan lipopolisakarida (Kim *et al.*, 1996; Sutherland, 1997). Pembentukan agregat tanah umumnya dipengaruhi EPS yang merupakan hasil dari aktivitas mikroorganisme (Lynch & Bragg, 1985; Goenadi, 1995).

Eksopolisakarida asal bakteri Gram negatif akan mengikat partikel tanah dan membentuk agregasi. Umumnya agregat yang terbentuk akibat EPS cukup stabil (UWA, 2004). Peran eksopolisakarida bagi bakteri adalah untuk melindungi dari berbagai macam cekaman lingkungan. Bakteri *Pseudomonas* sp. meningkatkan produksi EPS selama musim kering. Dengan memproduksi EPS memungkinkan untuk meningkatkan retensi air sehingga dapat mengatur difusi sumber karbon seperti glukosa ke dalam sel bakteri (Amellal *et al.*, 1998). Burdman *et al.*, (2000) mengatakan bahwa *Azospirillum brasilense* menghasilkan eksopolisakarida dalam bentuk arabinosa yang berkorelasi dengan tingkat kemampuannya membentuk agregat. Di dalam medium fruktosa sintetik, strain tipe liar menghasilkan EPS yang kaya akan glukosa selama fase pertumbuhan eksponensial dan EPS yang kaya akan arabinosa selama fase pertumbuhan stasioner dan fase kematian.

Hasil penelitian tersebut juga mengindikasikan bahwa EPS yang mengandung arabinosa memegang peranan penting dalam agregasi sel. Di lain pihak, rata-rata produksi EPS oleh *Vibrio harveyi* strain VB23 lebih tinggi selama masa pertumbuhan eksponensial akhir apabila dibandingkan dengan masa pertumbuhan stasioner (Bramhachari & Dubey, 2006).

Rhizobium yang diisolasi dari rhizosfer bunga matahari, *Pantoea agglomerans* dan *Paenibacillus polymyxa* dari rhizosfer *Triticum* spp. berperan dalam meningkatkan agregat di daerah sekitar perakaran (Amellal *et al.*, 1998; Alami *et al.*, 2000; dan Bezzate *et al.*, 2000). Beberapa bakteri penghasil eksopolisakarida lainnya yang telah diteliti antara lain *P.aeruginosa* (Castaneda *et al.*, 2000), *Erwinia* sp. (Deretie *et al.*, 1987) *Ralstonia* sp. (Kao *et al.*, 1992) dan *Azotobacter vinelandii* (Saile *et al.*, 1997). Namun demikian, perhatian terhadap peranan eksopolisakarida yang dihasilkan oleh rhizobacteria dalam meningkatkan kemantapan agregat tanah masih sangat sedikit (Alami *et al.*, 2000).

Penelitian ini bertujuan menguji efektivitas rhizobacterium penghasil eksopolisakarida dalam meningkatkan kemantapan agregat tanah mineral. Pemahaman terhadap potensi bakteri tanah serta mekanisme interaksi dengan tanah mineral akan memudahkan pengelolaan tanah yang kurang produktif.

Bahan dan Metode

Pelaksanaan Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Mikroba dan Bioproses, Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan, Bogor, Laboratorium Fisika Tanah, Balai Penelitian Tanah, dan Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Mineral dan Batubara, Bandung. Penelitian berlangsung pada bulan Januari sampai November 2007.

Isolasi dan seleksi bakteri potensial

Bakteri pemantap agregat diisolasi dari rhizosfer tanaman *Pueraria javanicum*,

Setaria plicata, *Mikania micranta*, *Centrosema pubescens*, *Calopogonium mucunoides*, dan *Saccharum officinarum*. Sebanyak 1,0 gram contoh tanah secara aseptik disuspensikan ke dalam larutan garam fisiologi (0,85%) lalu dibuat seri pengenceran sampai 10^{-6} . Selanjutnya 1000 uL suspensi ini disebar ke dalam medium agar MacConkey (Holt & Krieg, 1994; Remel, 2005). Inkubasi dilakukan selama tujuh hari pada suhu ruang. Koloni bakteri Gram negatif yang menunjukkan *lactose fermentative* (famili *Enterobacteriaceae*) dan *non-fermentative* (genus *Pseudomonas*) selanjutnya dipilih dan dimurnikan untuk pengujian lebih lanjut. Perlakuan pengenceran serial yang sama juga dilakukan untuk mengisolasi famili *Spirillaceae* dan *Azotobacteraceae*.

Identifikasi bakteri gram negatif potensial penghasil eksopolisakarida dilakukan dengan menggunakan *Microbact Identification Kits*. Seleksi awal terhadap bakteri potensial penghasil eksopolisakarida dilakukan dengan cara menumbuhkan isolat-isolat bakteri yang berhasil diisolasi dari rhizosfer ke dalam medium ATCC 14 (per liter medium): 0,2 g KH_2PO_4 ; 0,8 g K_2HPO_4 ; 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,1 g $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 2,0 mg FeCl_3 ; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (*trace*); 0,5 g ekstrak kamir; 20 g sukrosa; dan 15 g bacto agar dengan pH 7,2. Koloni bakteri yang membentuk *slime* tebal (Gambar 1) di dalam medium padat ATCC 14 diuji lebih lanjut dalam menghasilkan eksopolisakarida (Emtiazi *et al.*, 2004).

Optimasi produksi eksopolisakarida.

Tiga isolat bakteri gram negatif penghasil eksopolisakarida terpilih ditumbuhkan di dalam 50 mL medium ATCC 14. Sumber karbon yang digunakan untuk optimasi medium pertumbuhan terdiri dari



Gambar 1. Koloni *Flavobacterium* sp PG7II.2 yang membentuk *slime* di dalam medium ATCC 14 masa inkubasi 72 jam pada suhu ruang.

Figure 1. *Slime* of *Flavobacterium* sp PG7II.2 colony on ATCC 14 medium, 72 h incubation at ambient temperature.

sukrosa, glukosa, laktosa, dan 4-*hydroxyphenil acetic acid* (4-HAA) dengan tingkat konsentrasi sumber karbon masing-masing adalah 1, 2, dan 3% (w/v). Bakteri ditumbuhkan pada suhu ruang, di atas mesin pengocok 200 rpm selama 72 jam. Eksopolisakarida diukur dengan menggunakan metode Emtiazi *et al.*, (2004).

Uji keefektifan meningkatkan kemantapan agregat tanah

Pada tahap awal dilakukan analisis terhadap bahan tanah mineral yang akan digunakan untuk penelitian. Analisis tersebut meliputi kemantapan agregat awal, N (Kjeldahl), P₂O₅ dan K₂O (terekstrak HCl 25%), kandungan pasir, debu, liat, pH, konduktivitas elektrik, C-organik (Walkley-Black), KTK, dan CaCO₃.

Bahan tanah uji ditimbang masing-masing seberat 1 kg dan dimasukkan ke dalam kantong plastik tahan panas. Sterilisasi bahan tanah dilakukan dengan menggunakan Gamma radiasi 40 Kgray selama 11 jam. Sementara itu sebanyak dua lup inokulan bakteri terpilih masing-masing ditumbuhkan dalam medium

ATCC 14 dan *Aspergillus niger* dalam medium ekstrak jagung.

Selanjutnya untuk mengetahui pengaruh aktivitas inokulan tunggal dan campuran terhadap peningkatan nilai ASI maka sebanyak 25% (v/b) suspensi inokulan tunggal dan/atau campuran dari tiga isolat bakteri potensial penghasil eksopolisakarida terpilih dengan populasi 10⁸-10¹⁰ CFU/mL atau 10⁶-10⁷ propagul/mL *A. niger* diinokulasikan secara aseptik ke dalam masing-masing kantong berisi 1 kg bahan tanah steril. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 30, 60, dan 90 hari. Penetapan kemantapan agregat menggunakan metode pengayakan ganda (pengayakan kering dan pengayakan basah) dilakukan di Laboratorium Fisika Tanah, Balai Penelitian Tanah. Metode ini dikembangkan oleh De Leenheer & De Boodt (1959). Diameter pori ayakan yang digunakan berturut-turut 8; 4,76; 2,83; dan 2 mm. Adapun nilai indeks stabilitas agregat adalah sebagai berikut: > 80 (sangat stabil), 80-65 (stabil), 65-50 (agak stabil), 50-40 (tidak stabil), dan < 40 (sangat tidak stabil).

Percobaan disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL), enam perlakuan untuk setiap masa inkubasi dengan tiga ulangan (6 x 3 x 3 contoh bahan tanah mineral). Data yang diperoleh diolah dengan analisis sidik ragam dan apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan Uji Jarak Berganda Duncan pada taraf 5%. Berdasarkan ASI terbaik yang diperoleh pada 60 hari inkubasi dari perlakuan tersebut di atas, pengujian dilanjutkan dengan variasi konsentrasi inokulan. Konsentrasi suspensi inokulan yang diuji adalah 0; 12,5; 25; 37,5 dan 50% (v/b) dengan masa inkubasi 30 hari. Untuk mengetahui pembentukan agregat tanah karena aktivitas bakteri maka dilakukan analisis *Scanning Electron Microscopy*

(SEM) di Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Mineral dan Batubara, Bandung.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan seleksi bakteri potensial

Dari hasil penelitian ini, sebanyak 219 isolat bakteri telah berhasil diisolasi dari rhizosfer *P. javanicum*, *S. plicata*, *M. micranta*, *C. pubescens*, *C. mucunoides*, *S. officinarum*, dan *Z. mays*. Sebagian besar isolat diperoleh dari rhizosfer *P. javanicum* (63 isolat) dan *S. officinarum* (55 isolat). Sedangkan isolat lainnya diperoleh dari rhizosfer *S. plicata* (21 isolat), *M. micranta* (22 isolat), *C. pubescens* (22 isolat), *C. mucunoides* (16 isolat), dan *Z. mays* (20 isolat). Indikasi awal adanya eksopolisakarida pada koloni bakteri dicirikan oleh pembentukan *slime* sebagaimana yang dikemukakan oleh Gorin & Spencer (1966).

Berdasarkan pengamatan di dalam medium padat ATCC 14, diketahui bahwa dua puluh empat isolat memiliki potensi menghasilkan eksopolisakarida yang cukup baik. Potensi ini ditandai dengan pembentukan *slime* tebal (cembung/*mucoïd*). Sementara itu, lima belas isolat lainnya membentuk *slime* tipis (rata/transparan). Koleksi isolat terbanyak yang membentuk *slime* diperoleh dari rhizosfer *S. officinarum* (17 isolat) dan *P. javanicum* (9 isolat). Selanjutnya diperoleh dari rhizosfer *Z. mays* (5 isolat), *C. mucunoides* (3 isolat), *C. Pubescens* (2 isolat), *S. plicata* (2 isolat) dan *M. micranta* (1 isolat). Ketiga puluh sembilan isolat bakteri penghasil *slime* kemudian ditumbuhkan dalam medium MacKonkey. Berdasarkan pengamatan diketahui bahwa sebanyak 28 isolat tidak

memiliki kemampuan memfermentasi laktosa atau fermentasi laktosa negatif sedangkan 11 isolat lainnya memiliki kemampuan memfermentasi laktosa atau fermentasi laktosa positif (Tabel 1). Kemampuan tumbuh dalam medium MacKonkey ini sebagai indikasi bahwa seluruh isolat penghasil *slime* tersebut adalah kelompok bakteri gram negatif dan sebanyak 71,8% diantaranya tidak dapat menggunakan laktosa sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan dan pembentukan eksopolisakarida. Kelompok bakteri ini termasuk dalam genus *Pseudomonas*.

Daerah rhizosfer sebagai habitat bakteri yang digunakan dalam penelitian ini rata-rata memiliki nilai indeks stabilitas agregat dengan kategori agak stabil sampai dengan stabil. Kemantapan agregat ini kemungkinan dapat terjadi karena pengaruh eksudat akar dan jumlah populasi bakteri yang cukup tinggi di sekitar perakaran. Menurut Moreno *et al.* (1999), kemampuan bakteri untuk melindungi selnya dengan lapisan eksopolisakarida merupakan respons pertahanan diri terhadap kekeringan dan predator (protozoa), agensia antimikrobia, logam berat, mempertahankan aktivitas nitrogenase apabila konsentrasi oksigen tinggi, membantu melekat pada permukaan padat ketika terjadi akumulasi nutrien, dan dapat berinteraksi dengan tanaman.

Dua puluh empat isolat penghasil *slime* tebal diperoleh dari rhizosfer *S. officinarum* (12 isolat), *P. javanicum* (6 isolat), *Z. mays* (2 isolat), *C. mucunoides* (2 isolat), serta *C. pubescens* dan *M. micranta* masing-masing satu isolat. Berat eksopolisakarida (mg/mL) yang dihasilkan cukup variatif berkisar antara 0,02–8,04 mg/mL (data tidak ditampilkan). Berdasarkan analisis pembentukan eksopolisakarida dipilih tiga isolat potensial penghasil eksopolisakarida

Tabel 1. Potensi menghasilkan *slime* di dalam medium ATCC 14 dan memfermentasi laktosa di dalam medium padat MacConKey.Table 1. Potential *slime* production and lactose fermentation in ATCC 14 and MacConkey solid media.

Rhizosfer tanaman <i>Rhizosphere of plant</i>	Jumlah isolat (<i>Number of isolate</i>)		
	Membentuk <i>slime</i> <i>Slime formation</i>	Laktosa (<i>Lactose</i>) (-)	Laktosa (<i>Lactose</i>) (+)
<i>P. javanicum</i>	9	6	3
<i>S. plicata</i>	2	2	-
<i>M. micranta</i>	1	1	-
<i>S. officinarum</i>	17	11	6
<i>C. pubescens</i>	2	2	-
<i>C. mucunoides</i>	3	2	1
<i>Z. mays</i>	5	4	1
Total	39	28	11

Ketiga isolat tersebut berasal dari rhizosfer *S. officinarum*. Masing-masing diidentifikasi sebagai *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7.II.9.

Optimasi produksi eksopolisakarida

Tiga isolat potensial yaitu *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7.II.9 ditumbuhkan dalam medium ATCC 14 dengan sumber karbon sukrosa, glukosa, laktosa, atau 4-hydroxyphenil acetic acid (4-HAA) dengan konsentrasi masing-masing 1, 2, dan 3% (b/v). Bakteri penghasil eksopolisakarida akan tumbuh baik di dalam medium dengan sumber karbon yang mudah dioksidasi. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa sumber karbon terbaik bagi *P. fluorescens* PG7II.1 dan *P. diminuta* PG7II.9 adalah sukrosa masing-masing dengan konsentrasi 2 dan 3% (b/v). Berat eksopolisakarida yang dihasilkan dari kedua isolat tersebut masing-masing adalah 8,04 dan 1,82 mg/mL dengan masa inkubasi 72 jam

pada suhu ruang, sedangkan *Flavobacterium* sp. PG7II.2 dengan sumber karbon glukosa 1% menghasilkan 2,0 mg/mL eksopolisakarida (Tabel 2). Namun demikian, *Flavobacterium* sp. PG7II.2 juga dapat tumbuh baik menggunakan sukrosa sebagai sumber karbon dan energi. Dalam kegiatan penelitian ini eksopolisakarida yang dihasilkan oleh *P. fluorescens* PG7II.1 sedikit lebih tinggi daripada produksi eksopolisakarida *Azotobacter* sp. yang dilaporkan oleh Emtiazi *et al.*, (2004) yaitu 7,5 mg/mL dengan menggunakan 1% sukrosa sebagai sumber karbon.

Rendahnya pembentukan eksopolisakarida di dalam medium ATCC dengan sumber karbon laktosa mendukung hasil seleksi awal terhadap kegiatan isolasi bakteri. Dalam penelitian ini, sebanyak 71,8% bakteri yang diisolasi dari rhizosfer menunjukkan fermentasi laktosa negatif yang berarti bahwa sebagian besar isolat bakteri yang diperoleh tidak dapat menggunakan laktosa sebagai sumber karbon. Pembentukan eksopolisakarida oleh bakteri ini di dalam tanah kemungkinan

Peningkatan kemantapan agregat tanah mineral oleh bakteri

Tabel 2. Produksi eksopolisakarida dari *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7II.9 pada empat jenis sumber karbon.

Table 2. *Exopolysaccharide production of P. fluorescens PG7II.1, Flavobacterium sp. PG7II.2, and P. diminuta PG7II.9 on four of carbon sources types.*

Jenis bakteri <i>Bacterium</i>	Konsentrasi karbon <i>Carbon concentration</i> (% b/v)	Produksi eksopolisakarida dengan sumber karbon (mg/mL) <i>Exopolysaccharide production on carbon sources</i> (mg/mL)			
		Sukrosa <i>Sucrose</i>	Glukosa <i>Glucose</i>	Laktosa <i>Lactose</i>	4-HAA
<i>P. fluorescens</i> PG7II.1	1	0,34	0,16	0,14	0,10
	2	8,04	0,18	0,20	0,02
	3	1,28	0,24	0,28	0,08
<i>Flavobacterium</i> sp. PG7II.2	1	1,52	2,00	0,06	0,06
	2	1,08	0,20	0,06	0,10
	3	0,10	0,40	0,12	0,12
<i>P. diminuta</i> PG7II.9	1	0,50	0,02	0,06	0,10
	2	1,00	0,02	0,06	0,02
	3	1,82	0,04	0,12	0,02

dipengaruhi oleh sumber karbon sederhana (karbohidrat) yang berasal dari eksudat perakaran atau hasil dekomposisi bahan organik lainnya di dalam tanah.

Uji keefektifan meningkatkan kemantapan agregat tanah

Bahan tanah yang digunakan untuk pengujian agregat memiliki kandungan 3% pasir, 18% debu, 79% liat, 23,66 me/100g KTK, 0,03 dS/m konduktivitas elektrik, pH 4,4; 3,05% C-organik, 0,21% N; 0,017% P₂O₅, dan 0,036% K₂O. Sementara itu kandungan CaCO₃ yang diduga sebagai bahan organik pengikat (*cementing agents*) di dalam bahan tanah mineral tidak terdeteksi. Hal ini disebabkan karena pH tanah sangat masam. Perlakuan dengan inokulan tunggal maupun campuran ke dalam tanah beragregasi sangat tidak stabil mengindikasikan adanya peningkatan kema-

tapan agregat dalam 30 hari inkubasi (Tabel 3). Mikroorganisme tanah dapat menghasilkan polisakarida, hemiselulosa, uronida, dan sejumlah polimer alami lainnya yang dapat menempel pada permukaan partikel tanah melalui jembatan kation, ikatan hidrogen, van der Waals, dan mekanisme adsorpsi anion. Kemandapan agregat mikro tergantung pada keberadaan bahan organik pengikat, sedangkan kemandapan agregat makro dapat terbentuk karena aktivitas perakaran tanaman dan miselium fungi. Mikroorganisme dapat memetabolisme bahan organik tanah untuk menghasilkan eksopolisakarida yang kemudian digunakan sebagai agensia pengikat partikel agregat mikro. Perlakuan inokulasi *Flavobacterium* sp. PG7II.2, meningkatkan ASI dari 31,95 (sangat tidak stabil) menjadi 41,34 (tidak stabil). Indeks stabilitas agregat meningkat sejalan dengan lama waktu inkubasi sampai 60 hari. Dengan

Tabel 3. Indeks stabilitas agregat bahan tanah mineral yang diinokulasi bakteri penghasil eksopolisakarida dengan masa inkubasi 30, 60, dan 90 hari.

Table 3. Aggregate stability index (ASI) of mineral soil material inoculated by bacteria producing-exopolysaccharide after 30, 60, and 90 days incubation periods.

Perlakuan (Treatments)	ASI		
	30 hari	60 hari	90 hari
	30 days incubation	60 days incubation	90 days incubation
<i>P. fluorescens</i> PG7II.1	30,81 b ^{*)}	39,50 b ^{*)}	58,22 a ^{*)}
<i>Flavobacterium</i> sp. PG7II.2	41,34 a	70,5 ab	68,07 a
<i>P. diminuta</i> PG7II.9	40,57 a	85,5 ab	56,55 a
<i>P. fluorescens</i> PG7II.1+ <i>Flavobacterium</i> sp. PG7II.2 + <i>P. diminuta</i> PG7II.9	37,79 ab	114,0 a	57,80 a
<i>P. fluorescens</i> PG7II.1+ <i>Flavobacterium</i> sp. PG7II.2 + <i>P. diminuta</i> PG7II.9 + <i>A. niger</i>	40,41 a	110,0 a	51,73 ab
Blanko (tanpa inokulan)	31,95 b	36,15 b	36,15 b

^{*)} Angka dalam kolom yang sama yang diikuti dengan huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji jarak ganda Duncan ($P>0,05$).

^{*)} Figures in the same column followed by similar letter (s) are not significantly different according to Duncan Multiple Range Test ($P>0.05$).

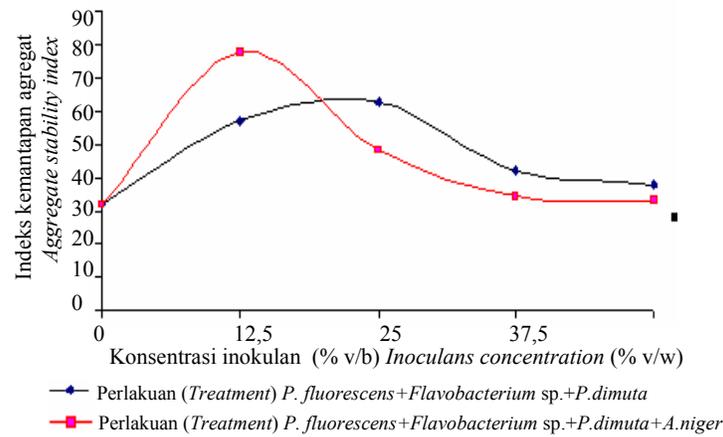
perlakuan 250 mL campuran suspensi inokulan (25% v/b) dari *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7II.9 atau campuran tiga isolat bakteri tersebut dan ditambah dengan inokulan *A. niger* dengan perbandingan yang sama maka ASI meningkat masing-masing dari 36,15 (sangat tidak stabil) menjadi 114 dan 110 (sangat stabil). Nilai ASI yang lebih tinggi pada perlakuan inokulan campuran apabila dibandingkan dengan inokulan tunggal pada 60 hari inkubasi diduga karena ada mekanisme sinergis yang mendukung pembentukan eksopolisakarida dari tiap isolat. Faktor lingkungan dan jumlah nutrisi yang tersedia di dalam bahan tanah mineral turut berperan dalam mendukung aktivitas dan viabilitas bakteri dan fungi yang diinokulasikan. Hal ini dapat diketahui dari laju pembentukan agregat yang stabil akan menurun sejalan dengan

makin lama waktu inkubasi. Berdasarkan hasil penelitian ini, kecuali perlakuan dengan *P. fluorescens* PG7II.1 pada masa inkubasi 90 hari, terjadi penurunan ASI. Penelitian ini mempunyai pola yang hampir sama dengan hasil penelitian Caesar & Cochran (2001) dimana kemandapan agregat pada bahan tanah berpasir yang diinokulasi dengan fungi saprofitik Basidiomycetes meningkat dalam 14 hari inkubasi dan kemudian terjadi penurunan secara gradual setelah 35 hari inkubasi. Dari hasil tersebut dapat diketahui dan mungkin merupakan informasi awal bahwa kemandapan agregat yang terbentuk karena aktivitas mikroorganisme tanah pada jenis tanah mineral akan lebih lama apabila dibandingkan dengan jenis tanah berpasir. Jumlah campuran suspensi biakan dengan perbandingan yang sama dari tiga bakteri atau dengan penambahan suspensi *A. niger* untuk inokulasi di dalam

Peningkatan kemantapan agregat tanah mineral oleh bakteri

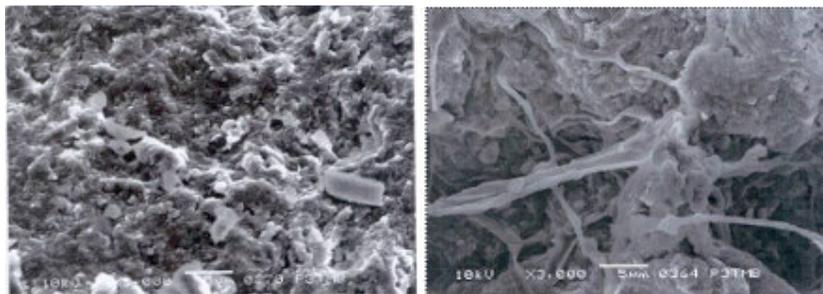
bahan tanah mineral yang optimum diperoleh pada konsentrasi 12,5% (v/b) (Gambar 2). Populasi masing-masing bakteri yang diinokulasikan ke dalam tanah rata-rata mencapai 10^9 CFU/mL atau 10^7 propagul/mL untuk *A. niger*. Indeksstabilitas agregat dari tiap perlakuan tersebut selama masa inkubasi 30 hari meningkat dari 36,15 (sangat tidak stabil)

menjadi 57,35 (agak stabil) dan 77,84 (stabil). Hasil analisis *Scanning Electron Microscopy* (SEM) menunjukkan adanya pengikatan antar butiran agregat bahan tanah mineral oleh eksopolisakarida bakteri, sementara pada bahan tanah tanpa inokulasi bakteri tidak terlihat adanya pengikatan butir agregat (Gambar 3).



Gambar 2. Pengaruh konsentrasi inokulan (%v/b) terhadap peningkatan indeks stabilitas agregat bahan tanah mineral masa inkubasi 30 hari.

Figure 2. Effect of inoculants concentration (%v/w) on aggregate stability index of mineral soil material increased after 30 days incubation.



Gambar 3. Scanning mikroskop elektron pada bahan tanah mineral tanpa inokulan (kiri) dan dengan inokulan *Flavobacterium* sp. PG7II.2 (kanan).

Figure 3. Scanning electron microscopy of uninoculated (left) and inoculant of *Flavobacterium* sp. PG7II.2 (right) in mineral soil material.

Kesimpulan dan Saran

Dari kegiatan penelitian ini diperoleh tiga bakteri unggul pemantap agregat yaitu *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7II.9. Kondisi optimum produksi eksopolisakarida untuk tiga bakteri tersebut diperoleh di dalam medium ATCC 14 dengan 2% sukrosa (*P. fluorescens* PG7II.1), 1% glukosa (*Flavobacterium* sp. PG7II.2) dan 3% sukrosa (*P. diminuta* PG7II.9) dengan berat eksopolisakarida masing-masing 8,04; 2,0 dan 1,82 mg/mL. Secara umum *P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7II.9 dapat tumbuh baik di dalam medium ATCC 14 dengan 2% sukrosa. Uji efektivitas pada bahan tanah dengan indeks stabilitas agregat rendah menunjukkan bahwa inokulan campuran (*P. fluorescens* PG7II.1, *Flavobacterium* sp. PG7II.2, dan *P. diminuta* PG7II.9) atau dengan penambahan *A. niger* dapat meningkatkan ASI dari kategori sangat tidak stabil menjadi sangat stabil dengan masa inkubasi 60 hari. ASI meningkat sejalan dengan lama waktu inkubasi sampai 60 hari. Pada hari ke-90 inkubasi, kecuali perlakuan dengan *P. fluorescens* PG7II.1 terjadi penurunan ASI. Dosis optimum inokulan campuran untuk meningkatkan ASI sebesar 12,5% (v/b). Namun demikian, kegiatan penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk mengoptimalkan produksi eksopolisakarida di dalam tanah, serta menguji efektivitasnya dalam meningkatkan kemantapan agregat tanah pada kondisi lapang.

Daftar Pustaka

- Alami, Y., W. Achouak, C. Marol & T. Heulin (2000). Rhizosphere soil aggregation and plant growth promotion of sunflowers by an exopolysaccharide-producing *Rhizobium* sp strain isolated from sunflower roots. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**(8), 3393-3398.
- Amellal, N., G. Burtin, F. Bartoli & T. Heulin (1998). Colonization of wheat roots by an exopolysaccharide-producing *Pantoea agglomerans* strain and its effect on rhizosphere soil aggregation. *Appl. Environ. Microbiol.*, **64**(10), 3740-3747.
- Bezzate, S., S. Aymerich, R. Chambert, S. Czarnes, O. Berge & T. Heulin (2000). Disruption of the *Paenibacillus polymyxa* levansucrase gene impairs ability to aggregate soil in the wheat rhizosphere. *Environ. Microbiol.*, **2**(3), 333-342.
- Bramhachari, P.V. & S.K. Dubey (2006) Isolation and characterization of exopolysaccharide produced by *Vibrio harveyi* strain VB23. *Letters in Appl. Microbiol.*, 22 Sep 2006. <http://www.blackwell-synergy.com>.
- Burdman, S., E. Jurkevitch, M.E. Soria-Diaz, A.M.G. Serrano & Y. Okon (2000) Extracellular polysaccharide composition of *Azospirillum brasilense* and its relation with cell aggregation. *Microbiol. Lett.*, **189**, 259-264.
- Caesar-TonThat, T.C. & V.L. Cochran (2001) Role of a saprophytic Basidiomycete soil fungus in aggregate stabilization. In: D.E. Stott *et al.* (Eds.). *Sustaining the Global Farm. 10th International Soil Conservation Organization Meeting* held May, 24-29, 1999 p. 575-579.

- Castaneda, M., J. Guzman, S. Mereno & G. Espin (2000) The GascS sensor kinase regulates alginate and polybeta-hydroxy-butyrate production in *Azotobacter vinelandii*. *J. Bacteriol.*, **182**, 2624-2628.
- De Leenheer & De Boodt (1959) Determination of aggregate stability by the change in mean weight diameter. *In: Proc. Internat. Symposium on Soil Structure*, Ghent. Belgium Rijkslandbouwhogeschool, p. 290-300.
- Deretie V., J.F. Gill & A.M. Chakrabarty. (1987) *Pseudomonas aeruginosa* infection in cystic fibrosis: nucleotide sequence and transcriptional regulation of the algD gene. *Nucleic Acid Res.* 15: 4567-4581.
- Emtiazi, G., Z. Ethemadifar & M. H. Habibi (2004) Production of extra-cellular polymer in *Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer. *African J. Biotechnol.*, **3** (6), 330-333.
- Goenadi, D.H. (1995) Nutrient-solubilizing and aggregate-stabilizing microbes isolated from selected humic tropical soils. *Menara Perkebunan*, **63**(2), 60-66.
- Gorin, P.A.J. & J.F.T Sper. (1966) Exocellular alginic acid from *Azotobacter vinelandii*. *Canadian J. Chem.*, **44**, 993-998.
- Holt, J.G. & N.R. Krieg (1994) Enrich and Isolation. *In: P. Gerhardt et al.* (Eds.). *Methods for General and Molecular Bacteriology*. Washington D.C. ASM Press. 205 p.
- Kemper, E.W. & R.C. Rosenau (1986) Aggregate stability and size distribution.. *In: A. Klute (Ed.) Method of Soil Analysis Part 1*. 2nd ed. ASA. Madison. Wisconsin. p 425-461.
- Kim, J.S., B.L. Reuhs, M.M. Rahman, B. Ridley & R.W. Carlson (1996) Separation of bacterial capsular and lipopolysaccharides by preparative electrophoresis. *Glycobiology*, **6**(4), 433-437.
- Lynch, J.M. & E. Bragg (1985) Microorganisms and soil aggregate stability. *Adv. Soil Sci.*, **2**, 133-171.
- Moreno, J., Vargas-Garcia C., Lopez M.J. & Sanches-Serrano G. (1999) Growth and exopolysaccharide production by *Azotobacter vinelandii* in media containing phenolic acids. *J. Appl. Microbiol.*, **86**, 439-445.
- Remel (2005) *Microbiology Products : Instructions for Use of MacConkey Agar*. <http://www.remelinc.com>. [28 Jun 2006]
- Saile E., J.A. McGarvey, M.A. Schell & T.P Denny (1997) Role of extracellular polysaccharide and endoglucanase in root invasion and colonization of tomato plants by *Rastonia solanaceanum*. *Phytopathol.*, **87**, 1264-1271.
- Samet E.B., S.C.Sowinski & Y. Okon (2004) Arabinose content of extracellular polysaccharide plays a role in cell aggregation of *Azospirillum brasilense*. *Microbiol. Lett.*, **237**(2), 195.
- Sutherland, I.W. (1997) Microbial exopolysaccharides-structural subtleties and their consequences. *Pure & Appl. Chem.*, **69**(9), 1911-1917.
- UWA (University of Western Australia). (2004) *Soil Aggregation*. <http://www.soilhealth.segs.uwa.edu.au>. [21 Jun 2006].
- Watt, M., M.E. McCully & C.E. Jeffree (1993) Plant and bacterial mucilages of the maize rhizosphere: comparison of their soil binding properties and histochemistry in a model system. *Plant Soil*, **151**, 151-165.