

Khemotaksis Rhizobakteri Osmotoleran pada Rizosfer Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata*, L.)

Chemotaxis of Osmotolerant Rhizobacteria in Rhizosphere Greenpea Plant (*Vigna radiata*, L.)

Yekti Maryani

*Fakultas Pertanian Universitas Sarjanawiyata Tamansiswa
Jl. Kusumanegara 121 Yogyakarta
E-mail: ym-ust@yahoo.com*

Abstract

This research has an objective to study chemotaxis of osmotolerant rhizobacteria strains Al-19 dan M7b in greenpea plant. These isolates were used to inoculate greenpea plant. The study on chemotaxis of osmotolerant rhizobacteria was conducted by CFU method in order to count the number of osmotolerant rhizobacteria AL-19 dan M7b in rhizosphere. Visualization of those isolates on root surface used fluorescence microscope and agglutination reaction with exudates of greenpea root. Result of the study showed that both isolates of osmotolerant rhizobacteria Al-19 dan M7b were found in rhizosphere of greenpea with low-density. Simple carbohydrate is substrat that is essential for rhizobacteria to grow thus the chemotaxis of both rhizobacteria is considered as metabolism - dependent. It means that it is not only as digested material but also function as affinity substance. These isolates gathered on the root surface weakly and did not make glutination reaction. This condition indicated that these isolates could not form colony on root surface of greenpea.

Key words: Rhizobacteria osmotolerant, chemotaxis, greenpea (*Vigna radiata*, L.)

Abstrak

Penelitian ini mempelajari khemotaksis rhizobakteri osmotoleran strain Al-19 dan M7b pada tanaman kacang hijau. Isolat ini diinokulasikan pada tanaman kacang hijau. Uji khemotaksis dilakukan dengan metode CFU untuk menghitung jumlah rhizobakteri osmotoleran Al-19 dan M7b di rizosfer. Visualisasi keberadaan isolat tersebut pada permukaan akar menggunakan mikroskop *fluorescence* dan uji aglutinasi dengan eksudat akar kacang hijau. Hasil penelitian ini menunjukkan kedua isolat rhizobakteri osmotoleran Al-19 dan M7b berada di rizosfer kacang hijau dengan kepadatan rendah. Senyawa karbohidrat sederhana bagi rhizobakteri osmotoleran merupakan substrat tumbuh, sehingga sifat khemotaksis kedua rhizobakteri osmotoleran tersebut dikategorikan dalam *metabolism dependent*, artinya senyawa yang dapat dicerna yang bersifat sebagai pengikat. Kedua isolat tidak mampu menggumpal dengan uji aglutinasi berarti kedua isolat tersebut menempel lemah pada permukaan akar. Hal itu menunjukkan bahwa isolat tersebut tidak mampu membentuk koloni pada permukaan akar kacang hijau.

Kata kunci: Rhizobakteri osmotoleran, khemotaksis, kacang hijau (*Vigna radiata*, L.)

Diterima: 06 Januari 2010, disetujui: 09 Agustus 2010

Pendahuluan

Rhizobakteri osmotoleran merupakan salah satu mikroba yang mempunyai sistem adaptasi terhadap tekanan osmotik dengan menganulasi osmolit dalam sitoplasma. Beberapa mikroba dan tanaman dalam kondisi

tekanan osmotik akan membentuk senyawa osmolit berupa glisin betain (Munro *et al.*, 1989; Kunin dan Rudy, 1991).

Salmonella typhimurium, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Azospirillum amazonense*, *A. lipoferum*, *A. brasilense* dan *A. halopraeferens* merupakan bakteri yang telah

diketahui mampu menghasilkan osmolit bila ditumbuhkan dalam medium dengan tekanan osmotik tinggi (Hartmann *et al.*, 1988). Osmolit sitoplasmik tersebut mampu mereduksi potensial air selular, sehingga lebih rendah daripada potensial air eksternal. Pembentukan derajat potensial air tersebut menyebabkan air mengalir menuju sel, akibatnya turgiditas sel dapat dipertahankan dan pertumbuhan sel dapat berlanjut.

Khemotaksis merupakan mekanisme bakteri dalam menanggapi perubahan komposisi senyawa (*chemoeffector*) lingkungannya secara cepat dan efisien. Bakteri akan segera mendekati senyawa yang disukainya (*chemoattractant*), tetapi akan segera menjauhi bila di sekitarnya terdapat senyawa yang membahayakan (*chemorepellent*) (Bren dan Eisenbach, 2000). Khemotaksis merupakan mekanisme yang diaktivasi karena perubahan pH, suhu, tekanan osmosis, viskositas dan senyawa kimia lainnya misalnya nutrisi atau senyawa metabolit sekunder. Respon bakteri terhadap nutrisi (asam amino, karbohidrat sederhana dan senyawa organik) merupakan sifat bakteri yang paling mendasar baik secara *in situ* maupun *in vitro* dan khemotaksis merupakan langkah awal dalam proses kolonisasi (Bacilio-jimenez *et al.*, 2003). Khemotaksis mendasari fenomena biologi yang terjadi misalnya proses pembentukan biofilm, infeksi patogen, hubungan asosiatif bakteri diazotrop, pergerakan mikroba dalam air dan tanah serta bioremediasi *in situ* (Liu dan Papadopoulos, 1996).

Salah satu anggota α Proteobakterium yaitu *Azospirillum brasilense* merupakan bakteri diazotrop yang banyak dijumpai pada tanaman sereal dan rumput-rumputan. Bakteri tersebut bersifat mikroaerofilik dan memiliki tipe metabolisme oksidasi yang dapat menggunakan nitrat sebagai akseptor dan sumber energi. Khemotaksis yang terjadi pada *Azospillum brasilense* bersifat *metabolism-dependent* artinya hanya senyawa yang dapat dicerna yang bersifat sebagai pengikat. Konsentrasi polihidroksi asam butirat (PHB) dalam sel menentukan tanggapan *A. brasilense*. Konsentrasi PHB yang tinggi akan menghalangi tanggapan khemotaksis bakteri. Diketahui bahwa terdapat hubungan langsung antara efisiensi senyawa sebagai *growth substrate* dan *chemoeffector* (Alexandre *et al.*,

2000). Beberapa jenis senyawa aromatik seperti *benzoate*, *cathecol*, *hydroxybenzoate* dan *protocatechuate* bersifat sebagai pemikat bagi *A. brasilense* pada konsentrasi yang sangat rendah (Lopez-de-Victoria dan Lovell, 1993).

Kolonisasi melibatkan beberapa tahap yaitu khemotaksis rhizobakteri ke permukaan akar, pelekatan rhizobakteri oleh senyawa *lectin-like compounds* dan perbanyakan diri (Parke, 1991). Kolonisasi merupakan tahap awal yang menentukan dalam interaksi antara rhizobakteri dengan tanaman (Klein *et al.*, 1990). Tahapan lanjut kolonisasi adalah proses pelekatan rhizobakteri pada permukaan akar. Menurut Espinosa-Urgel *et al.*, (2000) protein yang terdapat pada lapisan terluar sangat menentukan kemampuan pelekatannya pada permukaan lingkungan abiotik maupun biotik. Hal ini ditunjukkan adanya mutan *Pseudomonas putida*, yang tidak memiliki eksopolisakarida, ternyata mempunyai kapasitas pelekatan yang rendah terhadap biji dan gagal dalam berkoloni. Permukaan akar tanaman selalu dilindungi oleh selaput tipis lendir yang kaya akan senyawa pektat dan polisakarida. Senyawa yang terkandung dapat menyebabkan reaksi aglutinasi bakteri (Chao *et al.*, 1988). Pelekatan bakteri dapat terjadi karena adanya reaksi aglutinasi antara bakteri dan eksudat akar.

Khemotaksis merupakan tahap awal dalam mempelajari asosiasi antara rhizobakteri dan tanaman kacang hijau. Selain itu khemotaksis menentukan interaksi antara rhizobakteri dan tanaman kacang hijau. Penelitian ini penting sebagai dasar melakukan penelitian lebih lanjut.

Tujuan penelitian ini adalah mengkaji awal mekanisme asosiasi rhizobakteri osmotoleran dengan tanaman kacang hijau guna memperoleh informasi ilmiah tentang mekanisme interaksi awal antara rhizobakteri osmotoleran dan akar tanaman kacang hijau.

Metode Penelitian

Mikroorganisme

Dua isolat rhizobakteri osmotoleran yang digunakan yaitu AI-19 dan M7b. *E. coli* – gfp merupakan bakteri yang berpendar hijau di

bawah sinar UV. Tanaman kacang hijau yang digunakan adalah varietas bakti.

Isolasi dan Analisis Eksudat Akar

Eksudat akar untuk analisis biokimia dilakukan dengan modifikasi dari Klein *et al.*, (1988) 200 gram akar tanaman dicuci secara hati-hati menggunakan 400 ml akuades sampai terbebas dari tanah yang melekat. Larutan pencuci tersebut disentrifugasi 800 rpm selama 10 menit untuk memisahkan larutan dengan partikel-partikel tanah yang masih terbawa. Selanjutnya supernatan disaring dengan kertas saring. Supernatan dianalisis kandungan karbohidrat dengan metode HPLC (Settle, 1997).

Transformasi Gen *gfp* pada Rhizobakteri Osmotoleran

Bakteri penerima harus memiliki ketahanan terhadap kanamisin dan rifamisin. Bakteri penerima M7b memiliki ketahanan terhadap kanamisin. Untuk ketahanan terhadap antibiotik rifamicin perlu dilakukan pengujian lebih dahulu.

Bakteri M7b atau Al-19 ditumbuhkan dalam LB (Luria Bertani) cair yang mengandung rifamicin 50 µg selama satu malam. Bakteri donor *E. coli* pembawa gen pendar hijau (*E. coli* – *gfp*) ditumbuhkan dalam LB cair yang mengandung kanamicin 50 µg selama satu malam. Selanjutnya 0,5 ml suspensi M7b atau Al-19 dan 0,5 ml suspensi (*E. coli*–*gfp*) dicampur dalam ependorf, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit dan diambil peletnya. Setelah itu pelet dicuci dengan 1 ml 10 mM MgSO₄, selanjutnya disentrifugasi dengan kecepatan 13000 rpm selama 5 menit dan diambil peletnya. Pelet ditambah 10 µl 10 mM MgSO₄ divortek dan ditetaskan pada medium LB agar, selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam. Koloni yang tumbuh diambil dan ditumbuhkan dalam LB cair, digojog semalam. Hasil suspensi ditumbuhkan pada medium agar dalam cawan petri selama 48 jam dan dilihat dengan UV, apabila M7b atau Al-19 memiliki pendar hijau, maka transfer gen-*gfp* berhasil.

Khemotaksis Rhizobakteri Osmotoleran dengan Senyawa Gula

Uji khemotaksis rhizobakteri osmotoleran terhadap berbagai macam senyawa gula yang

dimiliki eksudat akar dilakukan dengan metode *Chemical-in-capillary method* (Tso dan Alder, 1971). Untuk mendapatkan respon khemotaksis yang baik oleh bakteri maka diperlukan suatu upaya untuk membuat bakteri dalam kondisi kelaparan (*starvation*). Kondisi ini dapat diperoleh dengan cara menumbuhkan satu ose rhizobakteri osmotoleran dalam 5 ml medium LB semalam. Sebanyak 1 ml suspensi bakteri ditumbuhkan kembali pada 20 ml *malate minimum medium* selama 2 hari. Komposisi *malate minimum medium* adalah 10 mM asam malat; 0,6 g/l KH₂PO₄; 0,2 g/l K₂HPO₄; 0,2 g/l MgSO₄; 0,1 g/l NaCl; 0,002 g/l NaMoO₄ · 2H₂O; 0,015 g/l FeCl₃; 4,9 g/l KOH; 0,025 g/l CaCl₂; 1 g/l NH₄Cl. Senyawa gula yang digunakan sebagai *attractant* adalah fruktosa, glukosa dan sukrosa dengan konsentrasi 0,01; 0,1; dan 1 mM.

Untuk menguji respons positif khemotaksis bakteri maka ke dalam kapiler diisi larutan *attractant*. "Ependorf tip" kuning digunakan sebagai kapiler, caranya dengan mengisi "tip" dengan larutan *attractant*, kemudian ujung "tip" dibakar dengan menggunakan nyala api. Sebelum digunakan, tip disimpan dengan cara direndam dalam larutan *attractant*. Selanjutnya kapiler tersebut dimasukkan ke dalam suspensi ('*pond*') bakteri yang motil. Jumlah sel bakteri yang masuk ke dalam kapiler selanjutnya dihitung dengan metode plating pada medium LB padat. Sebagai kontrol untuk mengetahui tingkat motilitas bakteri, maka kapiler tidak diisi senyawa *attractant* tetapi diisi dengan akuades steril. Besarnya khemotaksis bakteri dinyatakan dengan jumlah bakteri dalam senyawa *attractant* yang diukur dengan spektrofotometer OD₆₀₀ (Yu dan Roseman, 2001).

Visualisasi Keberadaan Rhizobakteri Osmotoleran pada Akar dengan Mikroskop Fluorescence

Akar tanaman kacang hijau umur 21 hari atau telah mencapai pertumbuhan vegetatif yang diinokulasi dengan isolat Al-19, M7b dan kontrol disterilkan dengan etil alkohol 70% dan dikocok selama 5 menit dan disterilkan dalam sodium hipoklorit (6,25%) selama 10 menit, selanjutnya dibilas dalam air steril 5 kali. Selanjutnya, dilihat dan difoto dengan mikroskop fluorescence perbesaran 400 X (Leff dan Leff, 1996).

Uji Kemampuan Aglutinasi Rhizobakteri dengan Eksudat Kacang Hijau

Eksudat akar kacang hijau yang digunakan ada 2 macam yaitu eksudat yang diperoleh dari tanaman yang tumbuh dalam kondisi tidak steril (Eks 1) dan eksudat dari tanaman steril (Eks 2). Sebanyak 0,5x volume suspensi bakteri dalam medium LB cair yang berumur 1 hari ditambah 1x volume MgCl₂ 1mM dan 3x volume Eks 1 atau Eks 2. Campuran tersebut diletakkan di atas gelas benda dan dibiarkan selama 10–15 menit. Sebagai kontrol, Eks 1 atau Eks 2 digantikan akuades. Pengamatan aglutinasi dilakukan dengan menggunakan mikroskop fase kontras dengan perbesaran 400 x (Chao *et al.*, 1988).

Pada percobaan ini inokulasi rhizobakteri osmotoleran dilakukan dengan merendam biji kacang hijau dan sisa rendaman disiramkan di rizosfer tanaman kacang hijau. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa rhizobakteri osmotoleran berada di rizosfer tanaman kacang hijau dengan kepadatan rendah dan mengalami penurunan kepadatan dibanding kepadatan saat pemberian awal (10⁶). Rhizobakteri osmotoleran menempel lemah pada permukaan akar tanaman kacang hijau yang terbukti tidak bereaksi

aglutinasi terhadap eksudat akar tanaman kacang hijau (Smith, 1987).

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan Analisis Senyawa Penyusun Eksudat Akar Kacang Hijau

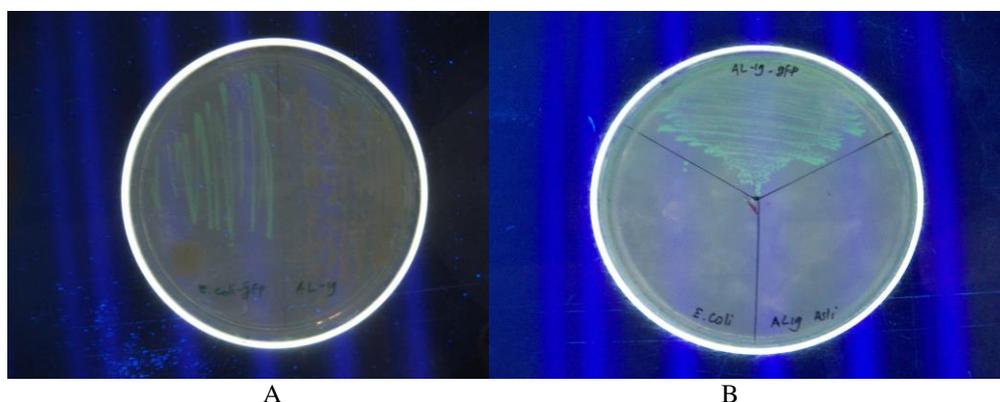
Eksudat akar berperan penting dalam menentukan jenis bakteri dan proses pelekatan bakteri pada akar. Penyusun eksudat akar disajikan pada Tabel 1. Eksudat akar berperan penting dalam menentukan jenis bakteri yang berinteraksi dengan tanaman. Penyusun eksudat akar dikenali berdasarkan senyawa standar dan komposisi senyawa penyusun eksudat akar disajikan dalam persentase. Eksudat merupakan respons alami tanaman terhadap lingkungan tanaman tempat tumbuh (Hodge *et al.*, 1996).

Transformasi Gen *gfp* pada Rhizobakteri Osmotoleran

Transformasi gen *gfp* ke dalam rhizobakteri osmotoleran telah berhasil dilakukan dan hasilnya disajikan pada Gambar 1 yaitu foto koloni rhizobakteri osmotoleran yang telah mengandung gen *gfp*.

Tabel 1. Komposisi senyawa karbohidrat sederhana penyusun eksudat akar kacang hijau.

No.	Senyawa Penyusun	Kondisi Pertumbuhan Tanaman	
		Medium tidak Steril (eks. 1) (%)	Medium Steril (eks. 2) (%)
1.	Sukrosa	0,15	Tidak terdeteksi
2.	Glukosa	2,48	0,59
3.	Fruktosa	0,95	0,55



Gambar 1. Koloni rhizobakteri osmotoleran Al-19 diamati dengan sinar UV.

- A. Isolat Al-19 asli (tidak berpendar) dan *E. coli-gfp* (berpendar hijau)
- B. Isolat Al-19 *-gfp* (berpendar hijau), Al-19 asli (tidak tumbuh) dan *E. coli -gfp* (tidak tumbuh)

Penelusuran sifat indofitik rhizobakteri osmotoleran dilakukan dengan menggunakan penanda gen *gfp* (*green fluorescent protein*). Dengan menyisipkan gen *gfp* ke dalam rhizobakteri target akan memudahkan dalam penelusuran kembali rhizobakteri target yang dilepas ke alam. Penyisipan gen *gfp* secara kromosomal memiliki beberapa keuntungan di antara ketahanannya dalam waktu yang relatif lama (Errampalli *et al.*, 1999; Ramos *et al.*, 2000).

Transformasi gen *gfp* pada rhizobakteri osmotoleran telah berhasil dengan baik dan penyisipan gen *gfp* terjadi dalam kromosom rhizobakteri. Errampalli *et al.*, (1999) menyebutkan bahwa transformasi gen *gfp* banyak ditemukan pada bakteri Gram negatif dan hanya sedikit dijumpai transformasi gen *gfp* secara kromosomal terjadi pada bakteri Gram positif. Pada penelitian ini ke-2 isolat rhizobakteri osmotoleran merupakan bakteri Gram negatif.

Keberadaan Rhizobakteri di Rizosfer

Keberadaan rizosfer dapat dilakukan dengan menghitung jumlah rhizobakteri di rizosfer tanaman kacang hijau disajikan pada Tabel 2.

Pada Tabel 2, jumlah bakteri di rizosfer tanaman kacang hijau kepadatannya rendah baik pada A1-19 (3×10^4) dan M7b (2×10^3) dan mengalami penurunan dibandingkan saat awal isolat diinokulasikan pada tanaman kacang hijau melalui biji dengan kepadatan 10^6 . Hal ini menunjukkan bahwa rizosfer tanaman kacang hijau kurang sesuai untuk rhizobakteri A1-19 dan M7b. Isolat A1-19 dan M7b merupakan rhizobakteri yang diisolasi dari rizosfer alang-alang yang hidup pada lahan kritis. Alang-alang merupakan tanaman rumput-rumputan, sedang kacang hijau merupakan tanaman *Leguminosae* yang di alam bersimbiose dengan rhizobium. Rhizobakteri osmotoleran yang diinokulasi pada tanaman padi gogo ternyata menyebabkan tanaman padi gogo mampu tumbuh pada kondisi sangat kering, dengan kadar lengas 40% dari kapasitas lapang (Yuwono *et al.*, 1997). Alang-alang dan padi merupakan satu kelompok tanaman rumput-rumputan dan rhizobakteri tersebut mampu beradaptasi dengan baik pada tanaman padi.

Khemotaksis Rhizobakteri Osmotoleran Terhadap Eksudat Akar Kacang Hijau

Simulasi khemotaksis rhizobakteri osmotoleran dilakukan terhadap senyawa karbohidrat sederhana yang terkandung dalam eksudat akar tanaman kacang hijau. Hasil uji khemotaksis rhizobakteri osmotoleran disajikan pada Tabel 3.

Pada Tabel 3 tampak bahwa rhizobakteri osmotoleran memiliki kemampuan khemotaksis terhadap senyawa karbohidrat sederhana yang terkandung dalam eksudat akar tanaman kacang hijau. Tampak bahwa isolat rhizobakteri osmotoleran A1-19 cenderung mempunyai khemotaksis yang relatif lebih tinggi dibanding dengan isolat rhizobakteri osmotoleran M7b.

Senyawa karbohidrat sederhana bagi rhizobakteri osmotoleran merupakan substrat untuk tumbuh sehingga sifat khemotaksis kedua rhizobakteri osmotoleran tersebut dikategorikan dalam *metabolism-dependent* artinya senyawa yang dapat dicerna dan bersifat sebagai pengikat (Alexandre *et al.*, 2000).

Konsentrasi glukosa dan fruktosa berpengaruh terhadap kemampuan khemotaksis rhizobakteri osmotoleran A1-19 dan M7b. Kemampuan khemotaksis rhizobakteri osmotoleran A1-19 dan M7b semakin menurun dengan menurunnya konsentrasi glukosa, fruktosa dan sukrosa. Konsentrasi sukrosa berpengaruh terhadap kemampuan khemotaksis rhizobakteri osmotoleran M7b. Kemampuan khemotaksis rhizobakteri osmotoleran M7b menurun secara tajam pada konsentrasi sukrosa 0,01 mM. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat hubungan langsung antara efisiensi senyawa tersebut sebagai *growth substrate* dan *chemoeffector*. Semakin efisien senyawa tersebut sebagai *growth substrate*, semakin kuat pengaruhnya sebagai *chemoeffector* (Alexandre *et al.*, 2000).

Visualisasi Pelekatan Rhizobakteri Osmotoleran pada Permukaan Akar Kacang Hijau Menggunakan Mikroskop Fluorescence

Pada Gambar 3 tampak bahwa dibandingkan dengan kontrol, kedua isolat rhizobakteri osmotoleran (A1-19 dan M7b) mampu melakukan penempelan pada permukaan akar tanaman kacang hijau.

Pelekatan rhizobakteri pada permukaan akar tanaman kacang hijau secara fisik diamati

dengan mikroskop fluorescence. Untuk melihat rhizobakteri menempel kuat atau tidak, perlu didukung uji kemampuan aglutinasi. Pada permukaan akar di samping terdapat senyawa yang disukai bakteri, dalam eksudat akar diduga mengandung senyawa *lectin-like compound*. Senyawa ini yang menyebabkan bakteri mengalami reaksi aglutinasi, sehingga bakteri lebih melekat pada permukaan akar dan tidak mudah tercuci oleh air (Chao *et al.*, 1988).

Uji Kemampuan Aglutinasi Rhizobakteri Osmotoleran dengan Eksudat Akar Kacang Hijau

Hasil uji kemampuan aglutinasi rhizobakteri osmotoleran dengan eksudat akar

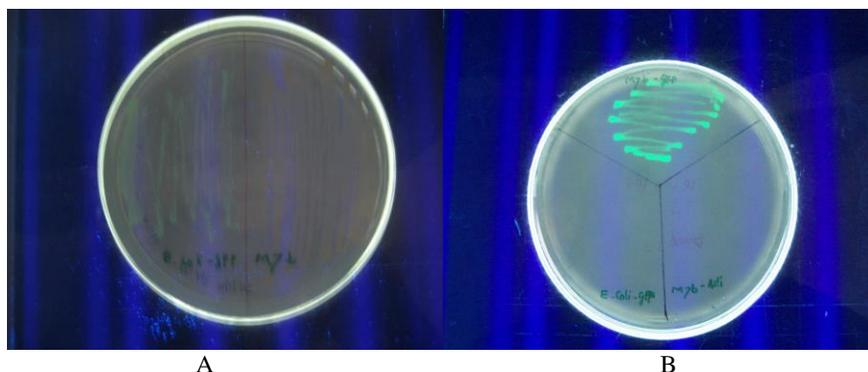
kacang hijau, ternyata rhizobakteri osmotoleran isolat Al-19 dan M7b tidak mampu melakukan reaksi aglutinasi dengan eksudat akar tanaman kacang hijau. Reaksi aglutinasi adalah reaksi spesifik yang terjadi antara senyawa glikoprotein yang terdapat pada dinding sel bakteri dengan *lectin-like compound* yang terdapat pada eksudat akar. Uji aglutinasi pada rhizobakteri ternyata tidak mampu bereaksi aglutinasi. Hal ini menunjukkan bahwa rhizobakteri osmotoleran Al-19 dan M7b tidak mampu melekat kuat pada permukaan akar tanaman kacang hijau, sehingga mudah lepas. Hal ini didukung hasil pemotretan rhizobakteri osmotoleran Al-19 dan M7b yang tampak pada dengan mikroskop fluorescence.

Tabel 2. Jumlah rhizobakteri di rizosfer tanaman kacang hijau.

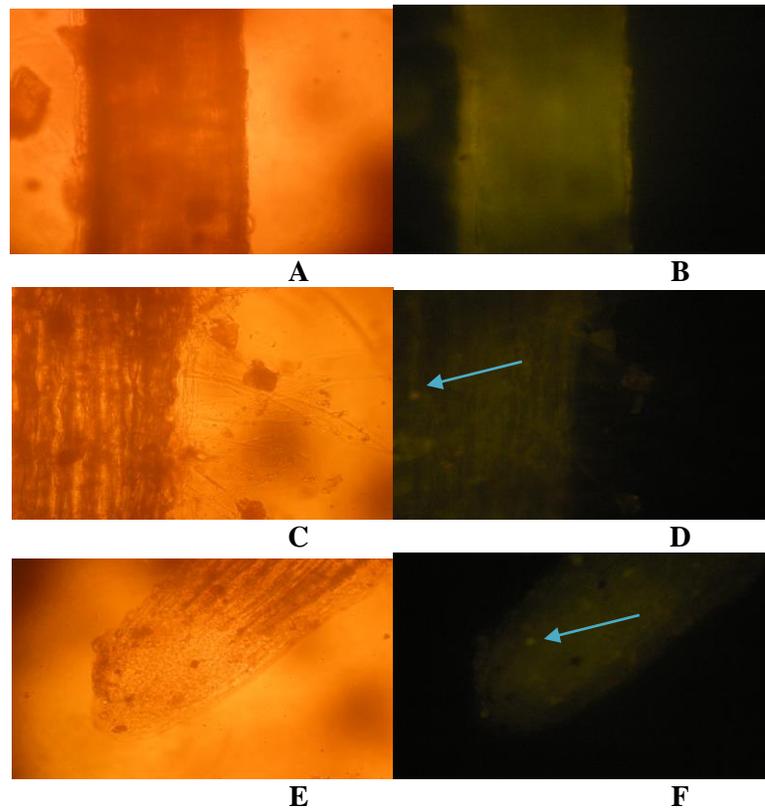
Rhizobakteri Osmotoleran	Jumlah (CFU/g tanah)
Kontrol	0
Al-19	$3,0 \times 10^4$
M7b	$2,0 \times 10^3$

Tabel 3. Uji khemotaksis rhizobakteri osmotoleran terhadap senyawa karbohidrat sederhana penyusun eksudat akar kacang hijau.

Senyawa <i>Attractant</i> (mM)	Jumlah Bakteri (OD λ 600)	
	Al-19	M7b
Kontrol	0,0	0,0
Sukrosa	1	0,37
	0,1	0,36
	0,01	0,32
Glukosa	1	0,39
	0,1	0,37
	0,01	0,34
Fruktosa	1	0,34
	0,1	0,32
	0,01	0,29



Gambar 2. Koloni rhizobakteri osmotoleran M7b diamati dengan sinar UV. (A) Isolat M7b asli (tidak berpendar) dan *E. coli-gfp* (berpendar hijau) (B) Isolat M7b-*gfp* (berpendar hijau), Al-19 asli (tidak tumbuh) dan *E. coli - GFP* (tidak tumbuh)



Gambar 3. Akar kacang hijau yang dinokulasi dengan isolat rhizobakteri osmotoleran dalam medium tanam steril. A dan B Akar tanpa isolat (kontrol); C dan D isolat AI-19; E dan F isolat M7b.

Simpulan dan Saran

Simpulan

Rhizobakteri osmotoleran berada di rizosfer tanaman kacang hijau dengan kepadatan rendah yaitu AI-19 sebesar $3,0 \times 10^4$ CFU/g tanah dan M7b sebesar $2,0 \times 10^3$ CFU/g tanah. Senyawa karbohidrat sederhana bagi rhizobakteri osmotoleran merupakan substrat untuk tumbuh. Sifat khemotaksis kedua rhizobakteri osmotoleran tersebut dikategorikan dalam *metabolism-dependent* atau bersifat sebagai pengikat. Rhizobakteri osmotoleran tidak mampu membentuk koloni pada permukaan akar kacang hijau.

Saran

Rhizobakteri osmotoleran AI-19 dan M7b memberikan respon khemotaksis positif terhadap karbohidrat sederhana yang terkandung dalam eksudat akar kacang hijau. Penelitian dapat dilanjutkan untuk mempelajari mekanisme asosiasi rhizobakteri AI-19 dan M7b pada tanaman kacang hijau.

Daftar Pustaka

- Alexandre, G., Greer, S.E. dan Zhulin, I.B. 2000. Energy Taxis is The Dominant Behavior in *Azospirillum brasilense*. *J. Bacteriology*, 182 (21): 6042–6048.
- Bacilio-Jimenez, M., Aguilar-Flores, S., Ventura-Zapata, E., Perez-Campos, E., Bouquelet, S. dan Zenteno, E. 2003. Chemical Characterization of Root Exudates from Rice (*Oryza sativa*) and Their Effects on The Chemotactic Response of Indophytic Bacteria. *Plant and Soil*, 249: 271–277.
- Bren, A. dan Eichenbach, M. 2000. How Signals are Heard during Bacterial Chemotaxis: Protein-protein Interactions in Sensory Signal Propagation. *J. Bacteriology*, 182 (24): 6865–6873.
- Chao, Wei-Liang, Ren-Kill dan Weng-Tang Chang. 1988. Effect of Root Agglutinin on Microbial Activities in The Rhizosphere. *Appl. and Enviro. Microbio.*, 54: 1838–1841.
- Errampalli, D., Leung, K., Cassidy, M.B., Kostrzynska, M., Blears, M., Lee, HH. dan Trevors, J.T. 1999. Application of Green Fluorescent Protein as a Molecular Marker in Environmental Microorganisms. *J. Microbiological Methods*, 35: 187–199.

- Espinosa-Urgel, M., Salido, A. dan Ramos, J. 2000. Genetic Analysis of Function Involved in Adhesion of *Pseudomonas putida* to Seeds. *J. Bacteriology*, 182 (9): 2363–2369.
- Harmann A. 1988. Ecophysiological aspects of growth and nitrogen fixation in *Azospirillum* spp. *Plant and Soil* 110 : 225-238.
- Holge, A., Grayston, S.J. dan Ord, B.G. 1996. A novel method for characterisation and quantification of plant root exsudates. *Plant and Soil*, 184: 97–104.
- Klein, D.A., Salzwedel, J.L. dan Dazzo, F.B. 1990. Microbial colonization of plant roots. In: Nahas, J.P. dan Hagedom, C. (Eds.). *Biotechnology of Plant-Microbe Interactions*. 189–225. Mc Graw-Hill Inc.
- Kunin, C.M. dan Rudy, J. 1991. Effect of NaCl induced osmotic stress on intracellular concentration of glycine betain and potassium in *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis* and *Staphylococci*. *J. Lab. Clin. Med.*, 188: 217–224.
- Leff, L.G. dan Leff, A.A. 1996. Use of green fluorescent protein to monitor survival of genetically engineered bacteria in aquatic environments. *Appl. and Enviromental Microbiology*, 62: 3486–3488.
- Liu, Z. dan Papadopoulos, K.D. 1996. A method for measuring bacterial chemotaxis parameter in microcapillary. *Biotechnology and Bioengineering*, 51: 120–125.
- Lopez-de-Victoria, Gerylyne dan Lovell, C.R. 1993 Chemotaxis of *Azospirillum* sp. to aromatic compounds. *Applied and Enviromental Microbiology*, 59 (9): 2951–2955.
- Munro, P.M., Gauthier, M.J., Breittmayer, V.A. dan Bongiovanni, J. 1989. Influence of osmoregulation processes on starvation survival of *Escherichia coli* in seawater. *Appl. Environ. Microbial*, 55: 2017–2024.
- Parke, J.L. 1991 Root colonization by Indigenous and Introduced microorganism. In: Keister, D.C. and Cregan, P.B. (Eds.). *The Rhizosphere and Plant Growth*. 33–42. Kluwer Acad. Publ. London.
- Ramos, C., Molbak, L. dan Molin, S. 2000. Bacterial activity in the rhizosphere analyzed at the single-cell level by monitoring ribosome contents and synthesis rates. *Appl. and Enviromental Microbiology*, 66 (2): 801–809.
- Settle, A. 1997. Handbook of techniques for analysis Chemistry. Academic PRESS. Inc. New York.
- Smith, R.S. 1987. Production and quality control of inoculants. In: Elkan, G.H. (Eds.). *Symbiotic Nitrogen fixation Technology*. 391–412. Marcel Dekker Inc. New York.
- Tso, W. dan Adler, J. 1971. Negative Chemotaxis in *Escheriachia coli*. *J. of Bacteriology*, 560–576.
- Yu, C. dan Roseman, S. 1993. A modified capillary Method for measuring bacterial chemotaxis. In: Gabius, H.J. and Gabius, S. (Eds.). *Lectin and glicobiology*. 441–444. Springer-Verlag. Berlin. Heidelberg. New York.