

Estimasi Populasi Bakteri INA (*Ice Nucleation Active*) Pada Tumbuhan Berdaun Jarum Di Cemoro Sewu Gunung Lawu

Arti Wahyu Utami

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Tujuh Belas
Email Corespondent*: artiwahyu270216@gmail.com

Abstrak

Bakteri *Ice Nucleation Active* (INA) merupakan penyebab *frost injury* atau luka beku pada tanaman. Habitat bakteri INA berada pada permukaan daun atau *philosper*. Bakteri INA berperan dalam proses *biopresipitasi* yaitu menginisiasi pembentukan kristal es pada awan di troposfer.. penelitian bakteri INA untuk saat ini masih banyak dilakukan di negara subtropis. Oleh karena itu, penelitian tentang bakteri INA dari daerah pegunungan tropis khususnya di Indonesia perlu dilakukan untuk mengetahui keberadaan bakteri INA di negara tropis khususnya Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk mengestimasi populasi bakteri INA pada tumbuhan berdaun jarum yaitu *Pinus merkussi*, *Cupressus sp* dan *Casuarina sp* di jalur pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu. Sampel tumbuhan diambil dari jalur pendakian Cemoro Sewu dengan masing-masing ketinggian: 2.300; 2.500; dan 2.700 m.dpl. Metode yang digunakan untuk mengetahui populasi bakteri INA adalah metode *multiple nucleation tube* dan menggunakan alat *circulating alcohol bath*. Jumlah sel populasi bakteri INA/g berat segar daun tumbuhan berdaun jarum diperkirakan berdasarkan tabel *Most Probable Number* (MPN). Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri INA ditemukan pada tumbuhan berdaun jarum di jalur pendakian Cemoro Sewu Gunung Lawu . Populasi bakteri INA pada *Pinus merkussi* $<3,0 \times 10^3$ sel/g, *Cupressus sp* $3,6 \times 10^3$ sel/g, dan *Casuarina sp* $<3,0 \times 10^3$ sel/g. Hal ini menunjukkan bahwa populasi bakteri INA yang terdapat pada tumbuhan berdaun jarum di Gunung Lawu relatif rendah.

Kata Kunci: Tumbuhan Berdaun Jarum, Bakteri *Ice Nucleation Active*, Estimasi, Populasi

Abstract

Ice Nucleation Active (INA) bacteria are the cause of *frost injury* or *frost injuries* on plants. The habitat of INA bacteria is on the leaf surface or *philosper*. INA bacteria play a role in the *bioprecipitation* process, namely initiating the formation of ice crystals in clouds in the troposphere. Currently, most research on INA bacteria is still being carried out in subtropical countries. Therefore, research on INA bacteria from tropical mountainous areas, especially in Indonesia, needs to be carried out to determine the presence of INA bacteria in tropical countries, especially Indonesia. This study aims to estimate the population of INA bacteria in needle-leaved plants, namely *Pinus merkussi*, *Cupressus sp* and *Casuarina sp* on the Cemoro Sewu hiking trail, Mount Lawu. Plant samples were taken from the Cemoro Sewu hiking trail with each altitude: 2,300; 2,500; and 2,700 m.dpl. The method used to determine the population of INA bacteria is the *multiple nucleation tube* method and using a *circulating alcohol bath*. The number of cells of the bacterial population INA/g fresh weight of needle leaf plants was estimated based on the *Most Probable Number* (MPN) table. The results showed that INA bacteria were found in needle-leaved plants on the Cemoro Sewu climbing route, Mount Lawu. The population of INA bacteria in *Pinus merkussi* $<3.0 \times 10^3$ cells/g, *Cupressus sp* 3.6×10^3 cells/g, and *Casuarina sp* $<3.0 \times 10^3$ cells/g. This shows that the population of INA bacteria found in needle-leaved plants on Mount Lawu is relatively low

Keywords: Needle Leaf Plants, *Ice Nucleation Active* Bacteria, Estimation, Population

PENDAHULUAN

Bakteri *Ice Nucleation Active* atau dapat disebut dengan bakteri filosfer. Total disebut juga dengan bakteri INA merupakan luas permukaan daun yang dapat ditempati bakteri yang habitatnya terdapat pada oleh kelompok bakteri filosfer adalah 0,1-1%

dan paparan sinar UV dari matahari dapat mengakibatkan 90% lebih bakteri mati (Morris, 2001). Kehadiran bakteri INA pada permukaan daun dapat meningkatkan kemungkinan frost injury pada suhu di atas -5°C (Lindow *et al.*, 1982). Bakteri INA mampu menginisiasi proses pembentukan es, kemampuannya untuk menginisiasi pembentukan es diperoleh secara alami karena bakteri tersebut mempunyai protein nukleasi es (Lindow, 1983). Saat ini sebaran kemelimpahan bakteri INA masih banyak ditemukan negara subtropis. Di negara Jepang bakteri INA dapat ditemukan pada tanaman brokoli, mulbery, dan kol; sedangkan di negara Amerika Serikat, bakteri INA dapat ditemukan pada tanaman jagung, tomat, jeruk, dan gandum (Arwiyanto, 2009). Bakteri INA dapat terbawa hujan yang kemudian tumbuh di permukaan daun (Stephani dan Waturangi, 2011). Waturangi *et al.*, (2008) menjelaskan bahwa bakteri INA yang ditemukan pada tanaman *Piela glaberina* salah satunya merupakan spesies *Pseudomonas sp* bakteri tersebut memiliki aktivitas nukleasi es. Penelitian yang sudah dilakukan di Indonesia menunjukkan bahwa keberadaan bakteri INA ditemukan pada tanaman *Morinda citrifolia*, *Piper betle*, *Carica papaya*, dan *Fragaria vesca* (Waturangi dan Amelia, 2009).

Lindow *et al.*, (1978) menyatakan populasi spesies bakteri INA yaitu spesies *P.*

syringae dan *E. herbicola* sangat melimpah ditemukan pada tujuh puluh empat macam spesies tumbuhan yang diambil sampelnya dari beberapa negara bagian di Amerika Serikat yaitu California, Colorado, Florida, Louisiana, dan Wisconsin. Pada sampel air hujan dan salju juga terdapat keberadaan bakteri INA (Morris *et al.*, 2004; Christner *et al.*, 2008). Stephanie dan Waturangi (2011) menyatakan bahwa Bakteri INA dapat diisolasi dari air hujan, dan diisolasi saat bulan Maret dan Mei 2008 dari beberapa daerah seperti Depok, Tangerang, Bekasi, Jakarta, dan Bogor. Kemelimpahan populasi bakteri INA dari hasil isolasi air hujan diperoleh lebih tinggi dan hasilnya berbeda disetiap daerah. Hal ini menunjukkan bahwa lokasi yang berbeda dapat mempengaruhi distribusi bakteri INA. Keberadaan bakteri INA pada air hujan dan udara dapat mempunyai peran yang sangat penting dalam proses biopresipitasi.

METODE

Pengambilan Sampel Tanaman berdaun Jarum

Teknik pengambilan sampel pada penelitian ini menggunakan metode purposive sampling berdasarkan pada tujuan penelitian. Penentuan sampling adalah perbedaan ketinggian dan keberadaan tumbuhan berdaun jarum di setiap lokasi pengambilan sampel. Sampel tumbuhan jenis Conifer diambil berdasarkan tiga ketinggian

yang berbeda yaitu ketinggian pertama 2.300 m.dpl ; ketinggian kedua 2.500m.dpl dan ketinggian ketiga 2.700 m.dpl.

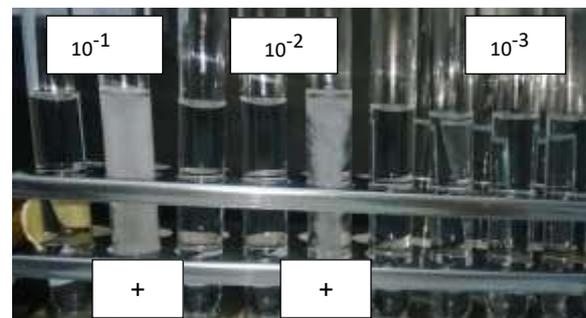
Estimasi Populasi Bakteri INA Di Tumbuhan Berdaun Jarum

Metode yang digunakan untuk menentukan estimasi populasi bakteri INA adalah metode multiple nucleation tube (Cazorla et al., 1995). Tabung berisi 9 ml buffer fosfat steril didinginkan dengan suhu -10°C selama 30 menit. Kemudian tabung dikocok untuk menghomogenkan dan semua tabung yang mengalami perubahan bentuk menjadi beku dipisahkan. Tabung yang tidak membeku kemudian dihangatkan pada suhu 5°C . Lima gram masing-masing sampel daun yaitu *Cupressus sp*, *Pinus mercussi* dan *Casuarina sp* disuspensikan dalam 200 ml buffer fosfat + pepton 5% kemudian dikocok dengan kecepatan tinggi 150 rpm selama 2 jam. Satu ml suspensi ini diencerkan secara serial dalam 10-1, 10-2, 10-3 menurut tabung seri 333. Kelimpahan bakteri INA per gram berat segar sampel diperkirakan dengan menghitung jumlah tabung pada setiap pengenceran yang dibekukan kemudian dicocokkan dengan tabel MPN sesuai dengan rumus Thomas 333 (APHA, 1975).

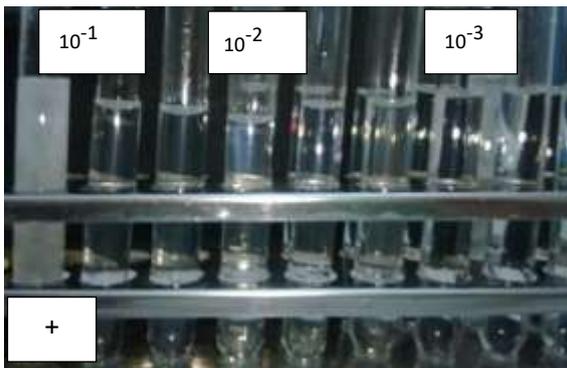
HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelembapan, curah hujan dan suhu yang rendah merupakan faktor penentu distribusi bakteri INA. Oleh karena itu perlu dilakukan estimasi jumlah populasi bakteri

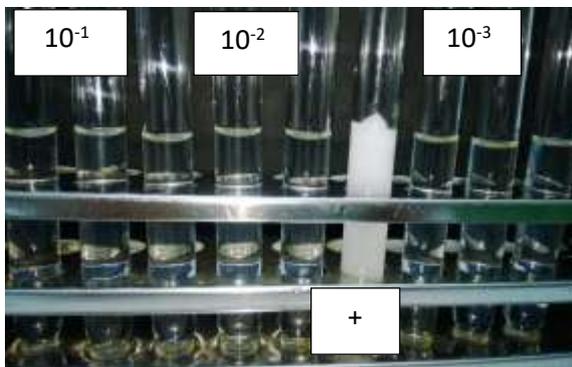
INA pada setiap sampel tumbuhan berdaun jarum (*conifer*) di Cemoro Sewu. MPN adalah metode perhitungan berdasarkan data kualitatif hasil pertumbuhan bakteri dalam medium cair dalam tabung seri). Cazorla et al., (1995) menyatakan bahwa menggunakan temperatur -5°C sebagai temperatur optimum untuk estimasi. Hasilnya menunjukkan tabung positif dibekukan pada tiga tumbuhan berdaun jarum . Tabung beku positif mengasumsikan bahwa dalam tabung beku mengandung setidaknya satu nukleasi es (Govindarajan & Lindow, 1998). Hal ini juga dijelaskan oleh Rajasa *et al* (2020) menyatakan bahwa Sampel yang mengalami pembekuan diduga akibat dari aktivitas bakteri INA, hasil ini menunjukkan bahwa Koloni yang dapat dikategorikan sebagai positif bakteri INA adalah koloni yang memiliki aktivitas nukleasi es. Aktivitas nukleasi es dapat terlihat ketika suspensi bakteri yang berada di dalam *microtube* membeku setelah diuji (Missa, H., & Baunsele, 2020). Tabung beku positif dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Tabung positif beku uji MPN kombinasi tabung 1-1-0 pada *Cupressus sp*



Gambar 2. Tabung positif beku uji MPN Kombinasi tabung 1-0-0 pada *Pinus mercussi*



Gambar 3. Tabung positif beku uji MPN Kombinasi tabung 0-1-0 pada *Casuarina sp*

Berdasarkan tabel MPN (Most Probable Number), rata-rata jumlah populasi bakteri INA dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Most Probable Number (MPN) populasi bakteri INA menurut tabel MPN

No	Ketinggian	Spesies tumbuhan	Rata-rata estimasi bakteri INA (MPN/g)
1	1= 2,300 m.dpl	<i>Pinus merkussi</i>	<3,0 x 10 ³
2	1= 2,300 m.dpl	<i>Cupressus sp</i>	3,6 x 10 ³
3	2= 2,500 m.dpl	<i>Pinus merkusii</i>	<3,0 x 10 ³
4	2= 2,500 m.dpl	<i>Cupressus sp</i>	3,6 x 10 ³
5	3= 2,700 m.dpl	<i>Casuarina sp</i>	<3,0 x 10 ³

Dari Tabel 1, populasi bakteri INA terbesar terdapat pada spesies tumbuhan *Cupressus sp.* di stasiun satu dan stasiun dua.

Hasil ini dapat dipengaruhi oleh faktor lingkungan abiotik. Salah satu faktor abiotik yang mempengaruhi keberadaan bakteri INA adalah radiasi matahari. Bakteri INA tidak memiliki habitat spesifik di daun. Musim dan curah hujan lebih banyak mempengaruhi aktivitas dan populasi bakteri INA (Missa, H., & Baunsele, 2020). Jumlah bakteri INA pada tumbuhan berdaun jarum sekitar 10³ dianggap rendah jika dibandingkan dengan beberapa penelitian sebelumnya. Beberapa penelitian yang telah dilakukan oleh Lindow (1993) menyatakan bahwa populasi bakteri INA mencapai 10⁶ sel/g jaringan tanaman.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah bakteri INA dapat ditemukan pada tumbuhan berdaun jarum di pegunungan tropis. Populasi bakteri INA tertinggi terdapat pada tumbuhan berdaun jarum *Cupressus sp* yaitu 3,6 x 10³ MPN/g dan terendah pada *Pinus merkusii* dan *Casuarina sp* yaitu <3,0 x 10³ MPN/g. Jumlah bakteri INA yang ditemukan pada tumbuhan runjung di pegunungan tropis sekitar 10³ tergolong rendah.

DAFTAR PUSTAKA

- Edwards, A.R., Ronald, A., Wichman, H.A., and Orser C.S. 1994. Unusual pattern of bacterial ice nucleation gene evolution. *Mol. Biol. Evol.* 11:911-920.
- Fardiaz, S. 1993. Analisis Mikrobiologi Pangan. Jakarta: PT. Raja Grafindo.

- Govindarajan, A.G. and Lindow, S.E. 1998. Size of Bacterial Ice Nucleation Sites Measured in Situ Low Radiation Inactivation Analysis. *Proc. Natl. Acad. USA* 58:1334-1338
- Hirano, S.S., and Upper, C.D. 2000. Bacteria in the leaf ecosystems with emphasis on *Pseudomonas syringae* a pathogen, ice nucleus, and epiphyte. *Mol. Microbio. Biol. Rev.* 64:624-653
- Lindow, S. E. 1993. Novel Method for Identifying Bacterial Mutant with Reduced Epiphytic Fitness. *Appl. Environ. Microbiol.* 59:1586-1592.
- Missa, H., & Baunsele, A. B. (2020). Jenis Dan Populasi Bakteri Ice Nucleation Active Penyebab Luka Beku Pada Daun Jeruk Keprok Soe Di Dataran Tinggi Mutis. *Agro Bali: Agricultural Journal*, 3(2), 127-135.
- Pelczar, M.J., Krieg, N.R., Roop, R.M, and Chan, E.C.S., 2003. *The Microbial Universe: An Introduction to Microbiology.* John Wiley & Sons Incorporated
- Pelczar, M.J., Krieg, N.R., Roop, R.M, and Chan, E.C.S., 2003. *The Microbial Universe: An Introduction to Microbiology.* John Wiley & Sons Incorporated.
- Rajasa, A. K., Susilowati, A., & Suranto, S. (2020). Isolation and identification of Ice Nucleation Active (INA) bacteria causing embun upas (frost injury) on leaves of potato plant in the Dieng Plateau, Central Java, Indonesia. *Asian Journal of Tropical Biotechnology*, 17(2).
- Wahyudi, A.T. 1995. Pembentukan Inti Es oleh Bakteri. *Hayati* 2:55-59.
- Waturangi, D. E., Meicy, V. and Suwanto, A. 2008. Isolation and identification of Ice-Nucleating Active Bacteria from Indonesian Edible plant poh-pohan. *Microbiol. Indones*, 1(2):8-10..