



## **LAPORAN AKHIR PKM-P**

### **SELEKSI DAN APLIKASI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN SEBAGAI ALTERNATIF PUPUK HAYATI PADA PENANAMAN GANDUM TROPIKA**

**BIDANG KEGIATAN:**

**PKM PENELITIAN**

Diusulkan oleh:

Ahmad Suryadi	G34110106/2011
Oktavia Damayanti	G34110061/2011
Annisa Dwiana	G34110065/2011
Achmad Alfian	G34120013/2012


**INSTITUT PERTANIAN BOGOR  
BOGOR  
2014**

## PENGESAHAN PKM-PENELITIAN

1. Judul kegiatan : Seleksi dan Aplikasi Bakteri Penambat Nitrogen Sebagai Alternatif Pupuk Hayati Pada Penanaman Gandum Tropika
2. Bidang Kegiatan : PKM-P
3. Ketua Pelaksana Kegiatan
  - a. Nama Lengkap : Ahmad Suryadi
  - b. NIM : G34110106
  - c. Jurusan : Biologi
  - d. Universitas : Institut Pertanian Bogor
  - e. Alamat Rumah dan No. Tel./HP : Jalan Kebon Pedes RT 04 RW03 No.19, Kec. Tanah Sareal, Kota Bogor/ 085710708386
  - f. Alamat email : ahmadsuryadi246@gmail.com
4. Anggota Pelaksana kegiatan/penulis : 3 Orang
5. Dosen Pendamping
  - a. Nama Lengkap dan Gelar : Dr. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si
  - b. NIDN : 0027116705
  - c. Alamat Rumah dan No. Tel./hp : Jalan Bijaksana No. 16 Kedung Badak Baru Bogor 16164 Telp 0251-8653242/ HP 08158321972
6. Biaya Kegiatan total
  - a. Dikti : Rp 11.050.000
  - b. Sumber Lain : -
7. Jangka Waktu Pelaksanaan : 4 Bulan

Bogor, 25 Juli 2014


Menyetujui,  
Ketua Departemen Biologi

  
Dr. Ir. Iman Rusmana, M.Si.  
NIP. 19650720 199103 1 002002


Wakil Rektor  
Bidang Kemahasiswaan

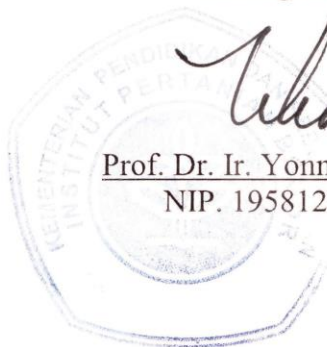
  
Prof. Dr. Ir. Yonny Koesmaryono, MS.  
NIP. 19581228 198503 1 003

Ketua Pelaksana

  
Ahmad Suryadi  
NIM. G34110106

Dosen Pendamping

  
Dr. Nisa Rachmania Mubarik, M.Si.  
NIP. 19671127 199302 2 001



## ABSTRAK

Bakteri menyumbang peranan penting dalam menyediakan berbagai unsur hara termasuk nitrogen yang sangat dibutuhkan oleh tanaman. Bakteri ini ada yang hidup berasosiasi dengan tanaman, sistem perairan, dan sedimen. Namun, ada pula bakteri penambat nitrogen hidup bebas di tanah yaitu *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Klebsiella*, dan *Beijerinckia*. Bakteri penambat nitrogen memiliki enzim nitrogenase yang berperan mereduksi gas N<sub>2</sub> dari udara menjadi amoniak yang dapat dimanfaatkan oleh sel bakteri dan tumbuhan dalam metabolisme nitrogen. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penambat nitrogen *Azotobacter* sp. yang terdapat di sekitar perakaran tanaman yang berasal dari Taman Wisata Alam Telaga Warna, Puncak dan tempat penanaman gandum Cisarua, Bogor. Metode yang digunakan pada penelitian ini dimulai dengan isolasi tanah dari sampel ke dalam media *Lacto Glucose Infused* (LGI) cair yang merupakan media untuk pertumbuhan *Azotobacter* dengan pengenceran serial. Dari 14 sampel tanah berhasil diisolasi empat isolat yang diduga *Azotobacter* sp. dengan ciri Gram negatif dengan bentuk dan penataan diplokokus atau diplobasilus. Kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim nitrogenase dianalisis dengan metode reduksi asetilen. Hasil dari reduksi asetilen dari tiga isolat terbaik menghasilkan satu isolat yang terdeteksi aktivitas nitrogenasenya terbesar pada isolat 1034 yaitu sebesar 1,546 ppm/jam. Hasil penanaman gandum dengan parameter tinggi tidak berbeda nyata. Namun, kondisi penguningan daun dan kematian tanaman gandum dengan tanpa pupuk memiliki jumlah yang lebih banyak. Sehingga dapat disimpulkan salah satu fungsi isolat yang didapat meningkatkan kebugaran tanaman dengan konsentrasi tertentu.

**Kata kunci:** *Azotobacter*, nitrogenase, penambat nitrogen, reduksi asetilen.

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah SWT, yang telah memberikan limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan laporan akhir Program Kreativitas Mahasiswa (PKM) yang berjudul “Seleksi dan Aplikasi Bakteri Penambat Nitrogen sebagai Alternatif Pupuk Hayati pada Penanaman Gandum Tropika”. Laporan akhir ini merupakan hasil dari penelitian penulis mengenai bakteri penambat nitrogen pada penanaman gandum tropika merupakan bagian dari hasil akhir penelitian PKM. Penelitian ini merupakan salah satu program untuk dilaksanakan oleh mahasiswa-mahasiswi Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor dalam melaksanakan PKM. Laporan ini diharapkan memberikan informasi mengenai hasil yang didapatkan sampai saat ini mengenai bakteri penambat nitrogen untuk penanaman gandum tropika. Penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Nisa Rachmania Mubarik M.Si selaku dosen pendamping PKM Penelitian ini.
2. Pak Jaka yang telah membantu kelancaran dalam mengerjakan penelitian di Laboratorium Pendidikan Mikrobiologi IPB.
3. Serta seluruh pihak yang turut serta dalam membantu penelitian ini Semoga penelitian dan laporan ini bisa bermanfaat untuk pembaca.

Bogor, 25 Juli 2014

Penulis

**DAFTAR ISI**

ABSTRAK .....	iii
KATA PENGANTAR .....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR LAMPIRAN.....	vi
I. PENDAHULUAN .....	1
Rumusan Masalah .....	1
Tujuan dan Manfaat .....	1
Luaran yang diharapkan .....	2
Kegunaan Program.....	2
II. TINJAUAN PUSTAKA.....	2
Bakteri Penambat Nitrogen .....	2
Pupuk Hayati (Biofertilizer).....	3
Gandum Tropika .....	3
III. METODE PENDEKATAN .....	3
Alat dan Bahan.....	3
Metode .....	4
IV. PELAKSANAAN PROGRAM .....	5
V. HASIL DAN PEMBAHASAN .....	7
VI.KESIMPULAN DAN SARAN .....	11
DAFTAR PUSTAKA .....	12
LAMPIRAN.....	14

**DAFTAR LAMPIRAN**

Bukti-bukti pendukung kegiatan ..... 14

## **I.PENDAHULUAN**

### **Latar Belakang Masalah**

Seiring dengan perkembangan zaman, pupuk dalam bidang pertanian sangat dibutuhkan untuk meningkatkan produktivitas tanaman. Petani umumnya menggunakan pupuk NPK. Pupuk kimia ini tergolong mahal dan disubsidi oleh pemerintah bagi petani. Selain itu, penggunaan pupuk berlebih dapat memberi dampak buruk bagi lingkungan yang berimbas pada rusaknya ekosistem yang dapat dilihat dari tingginya tingkat pencemaran air dan tanah (Cahyono 2008).

Salah satu alternatif pemupukan dengan pupuk hayati (*biofertilizer*). Pupuk hayati menggunakan bakteri sebagai penghasil salah satu unsur hara yang dibutuhkan tanaman yaitu nitrogen. Bakteri biasanya berasosiasi dengan tanaman, sistem perairan, dan sedimen. Namun, ada bakteri penambat nitrogen hidup bebas di dalam tanah yaitu bakteri fotosintetik (*Rhodospirillum*), bakteri aerobik Gram negatif (*Azotobacter*, *Azospirillum*), bakteri anaerobik fakultatif Gram negatif (*Enterobacter*), bakteri pembentuk spora (*Bacillus*), Aktinomiset (*Mycobacterium*), *Klebsiella*, *Beijerinckia* (Simanungkalit 2006). Genus dari *Azotobacter* dan *Azospirillum* biasanya hidup pada tanah daerah rhizosfer (Metasari 2012).

Gandum Sebagai tanaman serealia penting di dunia, memiliki peran strategis dalam mendukung ketahanan pangan dan pemenuhan kebutuhan pangan manusia. Kandungan glutein yang tinggi merupakan karakter kandungan fitokimia yang khas untuk gandum dibanding serealia lain. Proses adaptasi tanaman gandum dilingkungan tropis khususnya dataran rendah dibatasi faktor iklim yang memiliki variasi cukup tinggi, utamanya suhu, kelembaban, lama penyinaran dan intensitas penyinaran (Nur *et al.* 2012) . Selain itu, faktor nutrisi juga merupakan hal penting karena dengan kandungan protein yang dihasilkan gandum akan seiring dengan adanya ketersediaan nitrogen dalam pembentukan asam amino pada gandum. Oleh karena itu, perlu dibuat karya tulis mengenai seleksi dan aplikasi bakteri penambat nitrogen sebagai alternatif pupuk kimia pada penanaman gandum tropika.

### **Rumusan Masalah**

Perumusan masalah pada karya tulis ilmiah ini ialah sebagai berikut:

1. Residu hasil penggunaan pupuk kimia yang menyebabkan pencemaran air dan tanah.
2. Bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas dapat digunakan sebagai pupuk hayati dan berpotensi dapat mengurangi bahkan menggantikan pupuk N kimia

### **Tujuan dan manfaat**

Karya tulis ilmiah ini bertujuan :

1. Pemanfaatan bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas pada penanaman gandum tropika
2. Mengurangi residu penggunaan pupuk kimia
3. Potensi publikasi di jurnal ilmiah dan peluang paten

### **Luaran yang diharapkan**

Luaran yang diharapkan pada program ini ialah mendapatkan isolat bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas dari sumber tanah pada Taman Wisata Alam Telaga Warna dan penanaman gandum di Cisarua sebagai penyedia nitrogen pada penanaman gandum tropika. Hal tersebut dimaksudkan untuk mengurangi penggunaan pupuk kimiawi dan meningkatkan kesuburan tanah.

### **Kegunaan program**

Penelitian ini berguna untuk menggantikan pupuk kimia terutama nitrogen dengan alternatif pupuk hayati yang berupa isolat bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas terutama pada penanaman gandum tropika. Dengan demikian kesuburan tanah akan terjaga dan pencemaran air dan tanah berkurang.

## **II. TINJAUAN PUSTAKA**

### **Bakteri Penambat Nitrogen**

Beberapa bakteri menyumbang peranan penting dalam menyediakan berbagai unsur hara termasuk nitrogen yang sangat dibutuhkan oleh tanaman. Bakteri tersebut mengikat molekul nitrogen antara lain sebagai agen pembentuk protein. Genus dari *Azotobacter*, dan *Azospirillum* mempunyai mekanisme untuk melindungi enzim nitrogenase dari kerusakan akibat pengaruh oksigen.. Mekanisme ini dikenal dengan istilah perlindungan respirasi (*respiratory protection*). Beberapa spesies *Azotobacter* menghasilkan protein untuk mengikat nitrogenase dan melindunginya dari kerusakan oleh oksigen. Selain itu, beberapa bakteri aerobik diazotrof menghasilkan koloni besar dan *gummy* (ekstraselular polisakarida) pada media agar bebas nitrogen yang berfungsi sebagai penghalang, sehingga bagian dalam koloni terbebas dari oksigen (Saraswati *et al.* 2007). Bakteri-bakteri tersebut nantinya akan menghasilkan ammonia yang dapat diserap tumbuhan.

### **Pupuk hayati (*biofertilizer*)**

Pupuk hayati merupakan pupuk yang menggunakan agen mikrob sebagai penghasil unsur hara bagi tanaman. Mikrob yang ada di dalam *biofertilizer* yang diaplikasikan pada tanaman mampu mengikat nitrogen dari udara, melarutkan fosfat yang terikat di dalam tanah, memecah senyawa organik kompleks menjadi senyawa yang lebih sederhana, dan memacu pertumbuhan tanaman. Peluang penggunaan pupuk hayati pada masa mendatang cukup besar. Harga pupuk kimia semakin mahal akibat pengurangan subsidi pupuk oleh pemerintah, tingkat kesuburan tanah semakin menurun, kesadaran petani terhadap bahaya residu menyebabkan peralihan penggunaan pupuk kimia ke pupuk hayati (Musnamar 2003). Selain itu, penggunaan salah satu pupuk buatan nitrogen akan menurunkan efisiensi pupuk lainnya. Penggunaan pupuk nitrogen buatan secara terus menerus juga dapat merusak ozon di stratosfer, meningkatkan polusi udara, dan menyebabkan hujan asam akibat berlebihnya  $\text{NO}_x$  (Mengel 1990).

Penggunaan pupuk hayati ternyata dapat menghemat penggunaan pupuk kimia dan biaya pemupukan berturut-turut 50% dan 15-46%. Banyak penelitian dilakukan untuk mengetahui pengaruh berbagai dosis pupuk hayati (*biofertilizer*)



dan penggunaan media tanam yang berbeda sehingga didapatkan peningkatan pertumbuhan dan produktivitas suatu tanaman. Pupuk merupakan sarana produksi utama yang mempengaruhi hasil tanaman (Danapriatna 2009).

### **Tanaman Gandum Tropika**

Gandum Sebagai tanaman sereal penting di dunia, memiliki peranan dalam mendukung ketahanan pangan dan pemenuhan kebutuhan pangan manusia. Menurut Nur *et al.* (2012) bahwa gandum sebagai sumber pangan, dikonsumsi sekitar dua milyar penduduk di dunia (sekitar 36% dari total penduduk dunia). Pengetahuan mengenai mekanisme genetik dan fisiologis tanaman gandum dengan perubahan-perubahan kondisi lingkungan sangat penting untuk menciptakan strategi yang efisien untuk mengembangkan kultivar tahan cekaman untuk sistem produksi yang berkelanjutan (Rao 2001). Kebutuhan gandum di Indonesia setiap tahun terus mengalami peningkatan dan selama ini dipenuhi dengan cara mengimpor yang diperkirakan pada tahun 2011 impor gandum Indonesia telah mencapai 8 juta ton. Dosis pupuk N untuk gandum yaitu sebesar 90-120 Kg/ha untuk produksi 1,3-2,0 ton biji gandum (Bahar *et al.* 1989).



Gambar 1 Gandum Tropika

Glutein yang merupakan protein yang bersifat kohesif dan liat berperan sebagai zat penentu elastisitas adonan berbasis tepung. Produktivitas pada protein glutein menjadi sorotan akan kebutuhan sumber nitrogen sebagai salah satu kebutuhan utama untuk pembuatan protein. Unsur hara nitrogen menjadi salah satu faktor akan tersedianya protein tinggi pada gandum tersebut.

## **III.METODE PENDEKATAN**

### **Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan pada penelitian ini, ialah labu erlenmeyer, cawan petri, tabung reaksi, kapas, plastik tahan panas, sekop, penggaris, sudip, batang ose, batang penyebar, pembakar bunsen, neraca analitik, autoklaf, mikroskop, kaca preparat, kamera digital, pot. sedangkan bahan yang digunakan ialah, alkohol 70%; alkohol 95%; Media LGI (sukrosa 20 g;  $K_2HPO_4$  0,015 g;  $KH_2PO_4$  0,015 g;  $CaCl_2$  0,019 g;  $MgSO_4$  0,209 g;  $Na_2MoO_4$  0,002 g;  $FeCl_2$  0,019 g;  $CaCO_3$  1 g; agar-agar 15 g; Bromtimol Biru (BTB) 2 mL untuk setiap komposisi media LGI sebanyak 1000 mL). Bahan yang digunakan ialah sampel tanah yang berasal dari Taman Wisata Alam Telaga Warna dan perkebunan teh Ciliwung dan benih tanaman gandum tropika.

### **Metode**

Sampel tanah sebanyak 5 g dimasukkan ke dalam 50 mL media *Lacto Glucose Infused* (LGI) cair (tanpa agar dan BTB). Tujuan dimasukkannya tanah ke dalam media LGI cair adalah untuk memperkaya bakteri penambat nitrogen bebas yang terdapat di dalam tanah. Kultur diinkubasi pada inkubator goyang pada suhu kamar ( $\pm 25$  °C) selama tiga hari untuk mengoptimalkan pertumbuhannya. Sebanyak 1 g sampel tanah langsung dimasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis untuk pengenceran sebanyak 5 kali hingga  $10^{-5}$ . Sebanyak 0.1 ml kultur dari setiap pengenceran serial disebar di atas media LGI padat. Biakan cawan ditumbuhkan selama tiga hari. Isolat yang tumbuh dan memiliki bentuk morfologi koloni yang diinginkan, diambil dan dimurnikan kembali dengan metode gores kuadran sampai diperoleh biakan murni (Hadioetomo 1993).

### **Penghitungan *Total Plate Count* (TPC)**

Penghitungan *Total Plate Count* (TPC) dilakukan dengan metode penyebaran pada cawan berisi media LGI padat. Koloni bakteri yang tumbuh kemudian dihitung koloninya berdasarkan standar statistik dengan jumlah 30-300 koloni. Koloni yang tidak memenuhi persyaratan tersebut tidak hitung (Hadioetomo 1993).

### **Pewarnaan Gram**

Biakan bakteri diamati bentuk morfologi selnya melalui pewarnaan Gram (Hadioetomo 1993). Kaca preparat ditetesi dengan akuades. Kemudian, sel bakteri dioleskan pada kaca preparat dan difiksasi di atas api. Sel bakteri ditetesi dengan ungu kristal selama satu menit, lalu dibilas dengan akuades. Setelah itu sel bakteri ditetesi dengan iodine selama dua menit, dibilas dengan akuades. Sel bakteri ditetesi kembali dengan alkohol dan secara cepat dibilas dengan akuades. Tahapan terakhir pewarnaan yaitu dengan penggunaan safranin yang ditetaskan pada sel bakteri selama 30 detik lalu dibilas dengan akuades. Pengamatan dilakukan dengan mikroskop perbesaran 1000x dengan tambahan minyak imersi.

### **Kit Identifikasi**

Biakan bakteri ditumbuhkan kedalam media LGI yang baru. Inkubasi bakteri, setelah bakteri tumbuh pilih bakteri dengan morfologi yang berbeda. Tiga isolat bakteri yang memiliki morfologi berbeda diidentifikasi menggunakan kit identifikasi sehingga diperoleh biakan bakteri penambat nitrogen murni.

### **Uji Kemampuan Bakteri Penambat Nitrogen**

Isolat yang telah dimurnikan diinokulasikan pada media LGI semi padat. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 10 hari dan diamati pelikel yang terbentuk. Isolat yang paling banyak menghasilkan pelikel diuji lanjut dengan metode Asai Reduksi Asetilen. Terbentuknya pelikel pada permukaan media LGI semi padat ini menunjukkan kondisi yang baik untuk aktivitas nitrogenase. Pelikel yang dihasilkan oleh bakteri pada media LGI disebabkan di dalam medium tidak ada kelebihan oksigen, laju difusi oksigen sama dengan laju respirasi organisme merupakan kondisi yang baik untuk aktivitas enzim nitrogenase yang membantu mereduksi asetilen menjadi etilen (Susilowati *et al.* 2007).

### Aplikasi Hasil Seleksi Isolasi pada Tanaman Gandum Tropika

Suspensi hasil seleksi bakteri penambat nitrogen terbaik diberikan pada tanaman gandum tropika setiap satu minggunya dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Pengamatan dilakukan selama tiga bulan setelah penanaman gandum tropika.

Parameter yang diamati pada tanaman gandum tropika selama penelitian sebagai berikut:

1. Tinggi tanaman
2. Umur berbunga
3. Kondisi tanaman

## IV.PELAKSANAAN PROGRAM

### Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor. Pengambilan sampel tanah berlokasi di Taman Wisata Alam Telaga Warna dan tempat penanaman gandum di daerah Cisarua, Bogor. Pengujian isolat dilakukan dengan jasa pada laboratorium biologi di Balai Penelitian Tanah, Bogor. Selain itu, untuk penanaman gandum berlokasi di rumah kaca Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor.

### Tahapan Pelaksanaan

Kegiatan	Bulan 1				Bulan 2				Bulan 3				Bulan 4				Bulan 5			
	Minggu ke				Minggu ke				Minggu ke				Minggu ke				Minggu ke			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Pengambilan sampel	■																			
Persiapan bahan dan alat	■	■																		
Isolasi bakteri dari tanah		■	■	■	■	■	■													
Pengujian Ara						■	■	■	■	■	■									
Peremajaan Bakteri										■	■	■	■	■	■					
Penanaman gandum																	■			
Pengamatan penanaman gandum																		■	■	■
Analisis data																			■	■
Penyusunan laporan																			■	■

### Realisasi Biaya

No	Pembelanjaan	Jumlah Dana Terpakai (Rp)
1	Plastik warp	17.000
2	Serbet	4.000
3	Alkohol ( 1 L)	20.000
4	Toples	6.000
5	Plastik	8.000
6	Batang Penyebar	25.000
7	Tanah (1 karung)	35.000
8	Tanah (6 karung)	175.000
9	Pengujian ARA ( 3 sampel )	600.000
10	Cawan Petri ( 30 buah )	690.000
11	Media :	
	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> (20 gram)	50.000
	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> (20 gram)	50.000
	CaCl <sub>2</sub> ( 20 gram )	50.000
	MgSO <sub>4</sub> ( 20 gram )	50.000
	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ( 20 gram )	300.000
	CaCO <sub>3</sub> ( 20 gram )	50.000
	Agar-agar ( 100 gram )	250.000
12	Transportasi	11.525
13	Ose (2 buah)	16.000
14	Print	7.000
15	Satu set pewarnaan Gram dan 1 pak kaca obyek	80.000
16	Alkohol	20.000
17	Kapas	25.500
18	Plastik Anti Panas	7.500
19	Tisu G	2.500
20	Alkohol	20.000
21	Kunci Sepeda	23.000
22	Penggaris	12.500
23	Spiritus	6.000
24	Bunsen	25.000
25	AFO	17.000
26	Karet	3.500
27	Plastik Ha 20x35 obor	7.500
28	Spiritus	7.000
29	HPS ( 40 lembar )	4.000
30	Pen OHP	7.500
31	Spiritus	7.000
32	Sprayer	15.000
33	Tisu (Paseo Elegant Toilet Care 510's)	11.100
34	Bunsen	30.000
35	Bunsen	30.000
36	Paranet	75.000
37	Opmine ( 1 botol )	7.000
38	Print	4.000
39	Botol Laboratory 100 mL ( 5 buah )	265.000
40	Alkes	13.000
41	Transportasi	11.850
42	Polybag 40x40	12.000

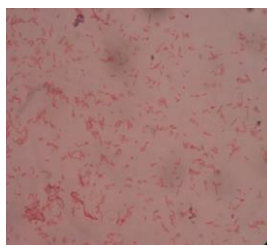
43	KCl	12.000
44	Urea	3.000
45	SP 36	3.000
46	NPK P	3.000
47	Print Warna	6.000
48	Materai 3000 ( 2 buah )	7.000
49	Materai 6000 ( 1 buah )	7.000
50	Sukrosa sigma	675.000
51	Tabung reaksi	240.000
52	Pengujian Maldi identifikasi 16sRNA (2 isolat)	1.400.000
53	Pengujian kit Identifikasi (2 buah)	500.000
<b>DANA TERPAKAI</b>		<b>6.019.975</b>
<b>DANA HIBAH</b>		<b>11.050.000</b>
<b>PERSENTASE DANA TERSERAP</b>		<b>54,48 %</b>

## V.HASIL DAN PEMBAHASAN

Spesies *Azotobacter* yang tumbuh pada media LGI memiliki sistem perlindungan respirasi dari oksigen yang terdapat di udara. Beberapa spesies *Azotobacter* menghasilkan protein untuk mengikat nitrogenase dan melindunginya dari kerusakan oleh oksigen. Selain itu, beberapa bakteri aerobik diazotrof menghasilkan koloni besar dan *gummy* (ekstraselular polisakarida) pada media agar bebas nitrogen yang berfungsi sebagai penghalang, sehingga bagian dalam koloni terbebas dari oksigen (Saraswati *et al.* 2007).

Sebanyak 27 isolat bakteri berhasil dimurnikan dan tumbuh dengan baik pada media LGI (Tabel 1). Isolat-isolat yang memiliki ciri-ciri Gram negatif sebanyak 14 isolat, sedangkan Gram positif sebanyak 13 isolat. Semua isolat yang didapatkan dipindahkan pada media LGI agar-agar miring setelah diperoleh biakan murni dari media cawan.

Isolat yang diduga sebagai *Azotobacter* ialah isolat 1022, 1031, dan 1044. Isolat ini menunjukkan bentuk batang, memiliki penataan diplobasilus dan Gram negatif. Morfologi sel dari *Azotobacter* dengan penggunaan mikroskop elektron memiliki bentuk batang dan produksi alginat atau lendir membentuk mikrokoloni (Prompaphagorn 2008). Bentuk sel *Azotobacter* selain batang ialah diplokokus seperti pada isolat 1034. Spesies *Azotobacter chroococcum* memiliki yang bentuk sel diplokokus.



Gambar 1 Isolat bakteri 1031 yang diduga *Azotobacter*. Pengamatan pada perbesaran mikroskop 1000x.

Tabel 1 Isolat-isolat bakteri yang berhasil dimurnikan dan karakteristiknya

No	Isolat	Gram	Bentuk Sel	Penataan Sel
1	1011	Positif	Batang	Diplobasilus
2	1012	Negatif	Kokobasil	Tunggal
3	1014	Positif	Batang	Diplobasilus
4	1015	Negatif	Kokobasil	Tunggal
5	1021	Negatif	Batang	Tunggal
6	1022	Negatif	Batang	Diplobasilus
7	1023	Positif	Batang	Tunggal
8	1024	Positif	Batang	Diplobasilus
9	1026	Negatif	Batang	Tunggal
10	1031	Negatif	Batang	Diplobasilus
11	1032	Positif	Batang	Tunggal
12	1033	Positif	Batang	Tunggal
13	1034	Negatif	Kokus	Diplokokus
14	1035	Positif	Batang	Tunggal
15	1036	Negatif	Batang	Tunggal
16	1041	Negatif	Batang	Tunggal
17	1042	Positif	Batang	Diplobasilus
18	1043	Positif	Batang	Diplobasilus
19	1044	Negatif	Batang	Diplobasilus
20	1045	Positif	Kokus	Tunggal
21	1046	Negatif	Kokus	Tunggal
22	1113	Positif	Kokus	Tunggal
23	1114	Negatif	Kokus	Tunggal
24	1123	Positif	Kokus	Tunggal
25	1133	Positif	Kokus	Tunggal
26	1153	Negatif	Kokus	Tunggal
27	1154	Negatif	Batang	Tunggal

Isolat lainnya yang tumbuh pada media LGI diduga dapat menambat gas nitrogen dari udara, karena media LGI tidak mengandung senyawa sebagai sumber N. Pengamatan lebih lanjut perlu dilakukan seperti ciri-ciri fisiologis dan pengujian reduksi asetilen.

Tabel 2 Hasil Reduksi asetilen

Isolat	Ppm/Jam
1031	0,142
1034	1,546
1153	0,116

Isolat yang diujikan merupakan isolat berdasarkan hasil yang diperoleh dalam proses isolasi ulang dari isolat yang hidup dari hasil yang didapatkan dari hasil pewarnaan gram dan hasil tiga terbaik isolat yang dimungkinkan untuk diuji dalam penanaman gandum selanjutnya. Reduksi asetilen menggunakan media semi padat LGI. Bakteri yang memiliki nilai tertinggi dalam penambatan nitrogen pada reduksi asetilen adalah isolat 1034 dengan mencapai 1,546 ppm/jam. Hasil

ini menunjukkan pendugaan sebelumnya bahwa bakteri yang digunakan didapatkan dalam proses pewarnaan gram sebelumnya. Hasil yang ditunjukkan dengan sejumlah etilen yang merupakan hasil reduksi dari asetilen dapat disetarakan secara pasti dengan reduksi nitrogen pada proses fiksasi nitrogen. metode reduksi aseilen ini cenderung lebih murah dan dapat dilakukan secara berkala atau dengan waktu periode pengukuran yang ditentukan. (Madigan et al, 2000).

Konsentrasi bakteri pada isolat 1034 diukur menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC). TPC ini dilakukan selama delapan hari dengan hasil sebagai berikut.

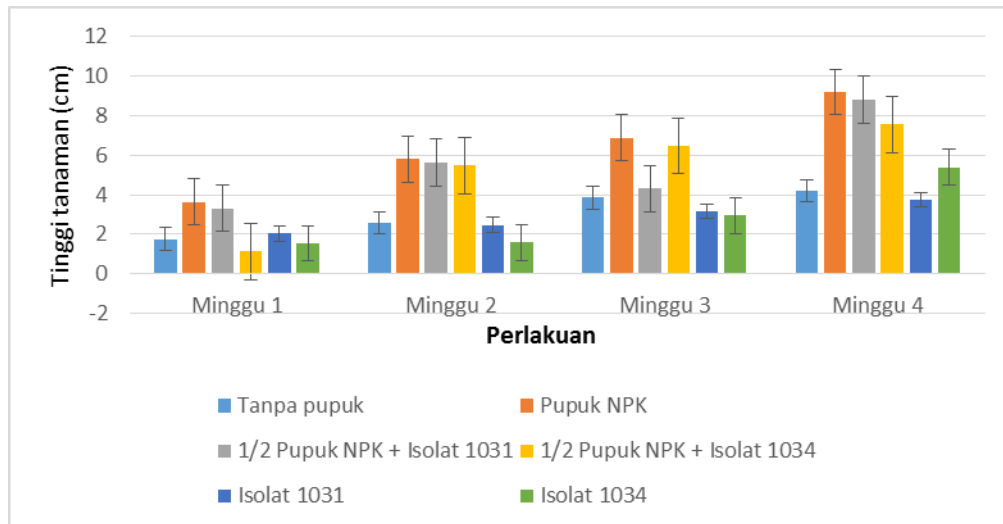
Tabel 3 Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri isolat 1034 dengan metode *Total Plate Count* (TPC)

Hari Ke-	Jumlah Sel				
	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-6}$
0	TBUD	$1,05 \times 10^5$	TSUD	TSUD	TSUD
1	TBUD	$6,4 \times 10^4$	TSUD	TSUD	TSUD
2	TBUD	TSUD	TSUD	TSUD	-
3	TBUD	TSUD	TSUD	-	-
4	TSUD	TSUD	TSUD	-	-
5	TBUD	TSUD	TSUD	-	-
6	$4,4 \times 10^3$	TSUD	TSUD	-	-
7	TSUD	TSUD	TSUD	-	-

Keterangan: TSUD (Terlalu sulit untuk dihitung); TBUD (Terlalu banyak untuk Dihitung)

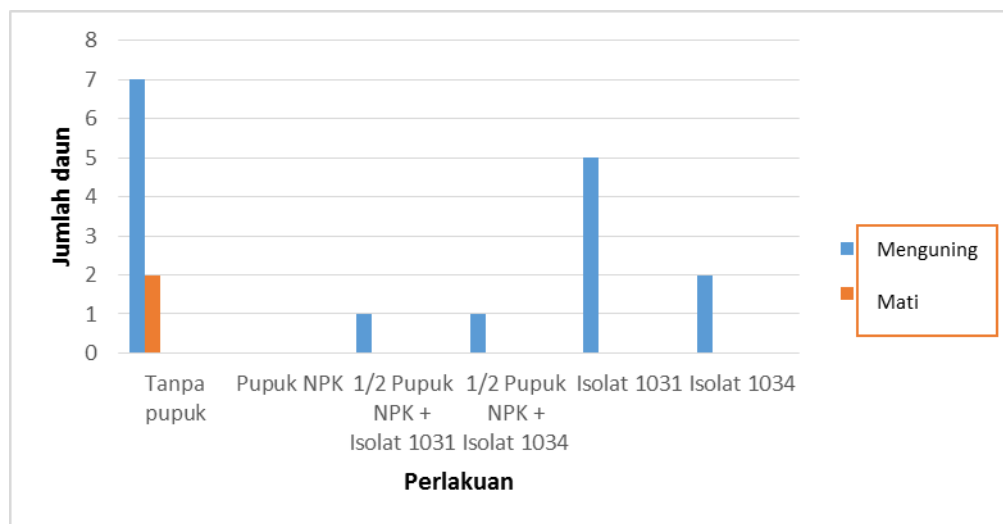
Berdasarkan hasil pengamatan selama tujuh hari pada setiap harinya dengan metode cawan sebar didapatkan hasil sel dengan hasil yang berbeda-beda. Hasil yang didapatkan untuk memenuhi syarat perhitungan yaitu pada pengenceran  $10^{-3}$  dengan jumlah sel tertinggi di hari ke 0 pengamatan yang merupakan hasil pada hari ketiga dengan  $1,05 \times 10^5$  sel. Hasil pengenceran terendah dominan TBUD dan dengan pengenceran dibawah  $10^{-3}$  menghasilkan nilai TSUD.

Aplikasi bakteri penambat nitrogen yang didapatkan diuji pada penanaman gandum dengan varietas Nias yang didapatkan dari Departemen Agronomi dan Hortikultura, Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat. Penanaman dilakukan di rumah kaca Departemen Biologi, Institut Pertanian Bogor. Penanaman dilakukan dengan enam perlakuan dengan penggunaan pupuk standar pertanian SP36, urea, dan KCl serta isolat 1031 dan 1034. Hasil yang didapatkan pada pengamatan minggu pertama adalah sebagai berikut.



Gambar 2 Hasil pengamatan pada tinggi tanaman gandum pada minggu ke-1

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada minggu pertama sampai minggu keempat pengamatan dapat dilihat bahwa tanaman kontrol yang diberi pupuk lebih baik pertumbuhannya dibandingkan tanaman kontrol yang tidak diberi pupuk. Hal ini terlihat baik dari segi jumlah tanaman yang tumbuh, rerata tinggi tanaman serta rerata jumlah daun tanaman. Tanaman kontrol yang diberi pupuk memiliki rerata tingginya lebih baik dibandingkan tanaman yang tidak diberi pupuk. gandum didapatkan bahwa kontrol dengan pemupukan standar memiliki tinggi tanaman rata-rata yang paling tinggi diantara yang lainnya. Tanaman yang diberi isolat belum menunjukkan kemampuan yang dimiliki pada faktor pengukuran tinggi, dan hasil tidak berbeda nyata, maka perlu dilakukan pengamatan lebih lanjut.



Gambar 3 Kondisi daun pada tanaman

Pengamatan pada kondisi tanaman menunjukkan hal yang berbeda. Kondisi pada tanaman tanpa pemupukan terjadi kondisi adanya penguningan pada tanaman yang memungkinkan karena kurangnya unsur nitrogen sedangkan pada tanaman dengan isolat 1034 memiliki jumlah penguningan yang sedikit pada



tanaman. Hal ini sejalan dengan yang dikatakan Simanungkalit *et al* (2006) bahwa mikroba dapat meningkatkan efisiensi pemupukan, kesuburan, dan kesehatan tanah sehingga pertumbuhan tanaman dapat jauh lebih baik. Selain itu pupuk hayati sebagai inokulan berbahan aktif organisme hidup yang berfungsi untuk menambat hara tertentu atau memfasilitasi tersedianya hara dalam tanah bagi tanaman.

## VI.KESIMPULAN DAN SARAN

### **Kesimpulan**

Hasil pengamatan sampai minggu keempat terhadap tinggi tanaman gandum menunjukkan hasil yang tidak berbeda nyata. Hal yang menunjukkan adanya pengaruh penambahan nitrogen ialah kebugaran tanaman yaitu melalui banyaknya kematian dan penuningan daun pada tanaman. Kondisi tanaman tanpa pupuk lebih banyak penguningan daun serta adanya kematian tanaman.

### **Saran**

Berdasarkan pengujian yang ada perlu dilihat kembali penambahan dengan konsentrasi tertentu dan pengaruh unsur yang ditambahkan seperti P dan K.

## DAFTAR PUSTAKA

- Bahar, Helmidar, Kaher. 1989. *Terigu dan Teknik Budidayanya*. Malang (ID): Balai Penelitian Tanaman Pangan Malang.
- Cahyono I. 2008. *Tomat : Usaha Tani dan Penganganan Pasca Panen*. Yogyakarta (ID): Kanusius.
- Case RJ, Boucher Y, Dahllöf I, Holmström C, Doolittle WF, Kjelleberg S. 2007. "Use of 16S rRNA and rpoB genes as molecular markers for microbial ecology studies". *Appl. Environ. Microbiol.* 73(1): 278–88
- Danapriatna N. 2009. Fenomena kelangkaan pupuk kimia dan alternatif solusinya. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah* 1(1).
- Fatimawali, Badaruddin F, Yusuf I. 2011. Isolasi dan identifikasi bakteri resisten merkuri dari muara sungai sario yang dapat digunakan untuk detoksifikasi limbah merkuri. *Jurnal Ilmiah Sains* 11 (2) : 282-288.
- Hadietomo R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta(ID): Gramedia.
- Madigan, Martinko, Parker. 2000. *Biology of Microorganisms, 9th edition*. New Jersey: Prentice Hall.
- Metasari K. 2012. Eksplorasi bakteri penambat nitrogen non simbiosis dari tanah kawasan Mangrove Wonorejo Surabaya [skripsi]. Surabaya: Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga.
- Mengel K. 1990. Impact of Intensive Plant Nutrient Management on Crop Production and Environment. *14th Ing. Long. of Soil Sci. Plenary Lecture*: 42-52.
- Murray MG, Thomson WF. 1980. Rapid isolation of high molecular weight plant sDNA. *Nuc Acid Res* 19:823-881.
- Musnamar EI. 2003. *Pupuk Organik Padat: Pembuatan dan Aplikasinya*. Jakarta(ID): Penebar Swadaya.
- Nur A, Trikoesoemaningtyas, Khumaida N, Yahya S. 2012. Evaluasi dan keragaman genetik 12 galur gandum introduksi di lingkungan tropika basah. *Jurnal Agrivigor* 11 (2): 230-243.
- Pangastuti A. 2006. Definisi spesies prokaryota berdasarkan urutan basa gen penyandi 16s rRNA dan gen penyandi protein. *BIODIVERSITAS* 7(3): 292-296.
- Prompaphagorn A. 2008. Alginate production by *Azotobacter* sp. and its application in Enzyme Immobilization [thesis]. Nama kota (kode Negara): Postgraduate Programme in Biotechnology, Suranaree University of Technology.
- Rao IM. 2001. *Role of Physiology in Improving Crop Adaptation to Abiotic Stresses in the Tropics: The Case of Common Bean and Tropical Forages, in Handbook of Plant and Crop Physiology Second Edition (ed.)* Arizona: Teson Arizona.
- Saraswati R, Husen E, Simanungkalit RDM. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor(ID): Balitbang.
- Simanungkalit RDM. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Bogor: Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Susilowati D. N, R. Saraswati R.D. Hastuti, dan Yuniarti E. 2007. Peningkatan

Serapan N pada Kedelai yang Diinokulasi Bakteri *Diazotrof Endofit* di Medium Vermiculit. *J Tanah Iklim*. Bogor. 26. 41-46.

**LAMPIRAN**

Gambar 1 Tempat pengambilan sampel tanah penanaman gandum



Gambar 2 Penimbangan bahan untuk pembuatan



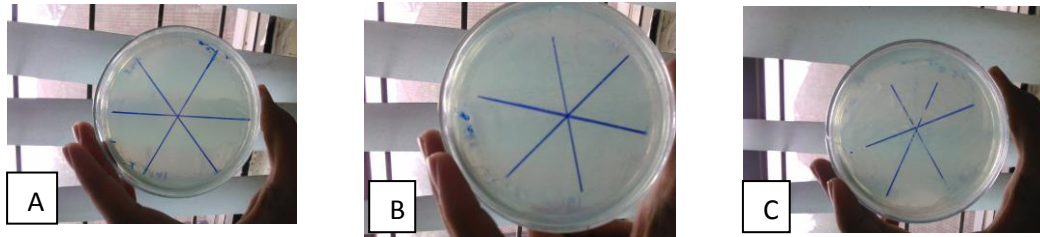
Gambar 3 Penuangan media LGI



Gambar 4 Inokulasi bakteri ke media LGI



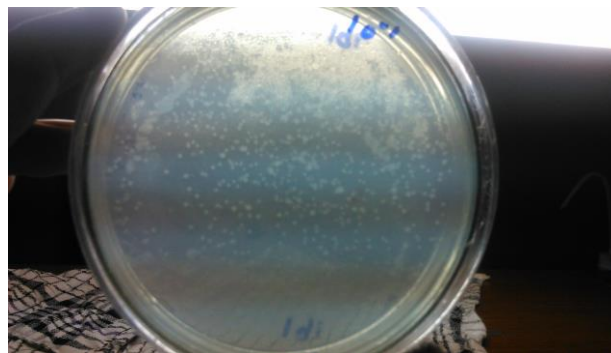
Gambar 5 Pengecekan media yang telah diinokulasi



Gambar 6 Isolat hasil peremajaan: A) 1031; B) 1034 C) 1153



Gambar 7 Hasil reduksi asetilen



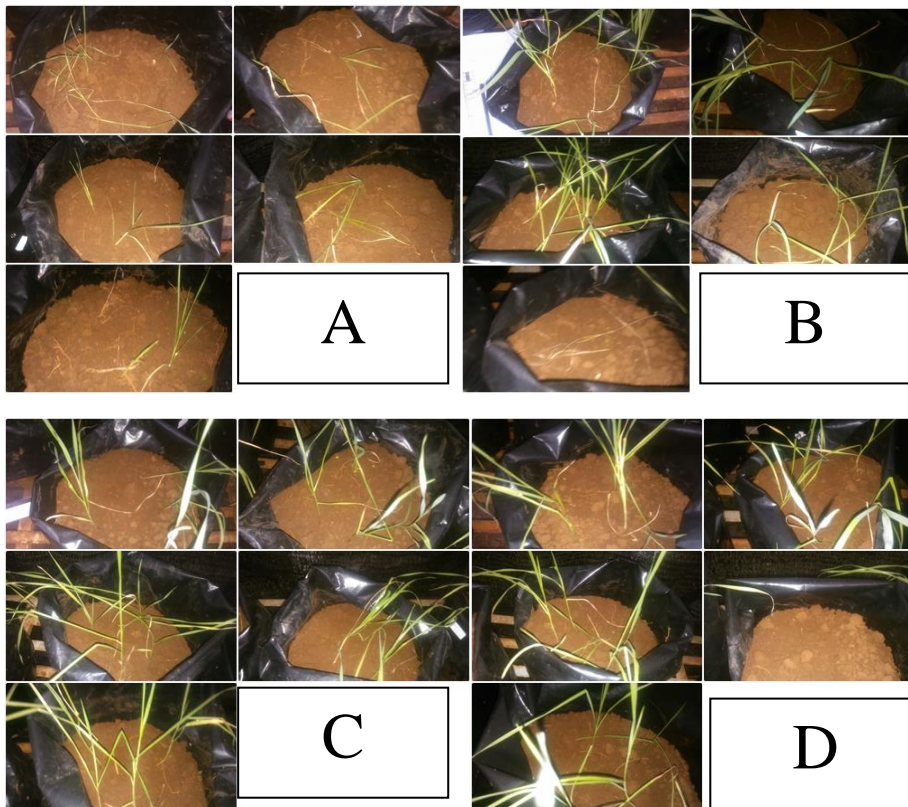
Gambar 8 Hasil TPC isolat 1034 hari ke-1



Gambar 9 Pengukuran pada tanaman gandum



Gambar 10 Tanaman yang mati pada perlakuan tanpa pemupukan













**"ALIR"**  
Kantor: Jl. ...  
Telp: ...

DAFTAR PEMBELAN  
No. ...  
Tanggal: ...

No	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian
1	...	...	...	...	...
2	...	...	...	...	...
3	...	...	...	...	...
4	...	...	...	...	...
5	...	...	...	...	...
6	...	...	...	...	...
7	...	...	...	...	...
8	...	...	...	...	...
9	...	...	...	...	...
10	...	...	...	...	...
11	...	...	...	...	...
12	...	...	...	...	...
13	...	...	...	...	...
14	...	...	...	...	...
15	...	...	...	...	...
16	...	...	...	...	...
17	...	...	...	...	...
18	...	...	...	...	...
19	...	...	...	...	...
20	...	...	...	...	...
21	...	...	...	...	...
22	...	...	...	...	...
23	...	...	...	...	...
24	...	...	...	...	...
25	...	...	...	...	...
26	...	...	...	...	...
27	...	...	...	...	...
28	...	...	...	...	...
29	...	...	...	...	...
30	...	...	...	...	...
31	...	...	...	...	...
32	...	...	...	...	...
33	...	...	...	...	...
34	...	...	...	...	...
35	...	...	...	...	...
36	...	...	...	...	...
37	...	...	...	...	...
38	...	...	...	...	...
39	...	...	...	...	...
40	...	...	...	...	...
41	...	...	...	...	...
42	...	...	...	...	...
43	...	...	...	...	...
44	...	...	...	...	...
45	...	...	...	...	...
46	...	...	...	...	...
47	...	...	...	...	...
48	...	...	...	...	...
49	...	...	...	...	...
50	...	...	...	...	...
51	...	...	...	...	...
52	...	...	...	...	...
53	...	...	...	...	...
54	...	...	...	...	...
55	...	...	...	...	...
56	...	...	...	...	...
57	...	...	...	...	...
58	...	...	...	...	...
59	...	...	...	...	...
60	...	...	...	...	...
61	...	...	...	...	...
62	...	...	...	...	...
63	...	...	...	...	...
64	...	...	...	...	...
65	...	...	...	...	...
66	...	...	...	...	...
67	...	...	...	...	...
68	...	...	...	...	...
69	...	...	...	...	...
70	...	...	...	...	...
71	...	...	...	...	...
72	...	...	...	...	...
73	...	...	...	...	...
74	...	...	...	...	...
75	...	...	...	...	...
76	...	...	...	...	...
77	...	...	...	...	...
78	...	...	...	...	...
79	...	...	...	...	...
80	...	...	...	...	...
81	...	...	...	...	...
82	...	...	...	...	...
83	...	...	...	...	...
84	...	...	...	...	...
85	...	...	...	...	...
86	...	...	...	...	...
87	...	...	...	...	...
88	...	...	...	...	...
89	...	...	...	...	...
90	...	...	...	...	...
91	...	...	...	...	...
92	...	...	...	...	...
93	...	...	...	...	...
94	...	...	...	...	...
95	...	...	...	...	...
96	...	...	...	...	...
97	...	...	...	...	...
98	...	...	...	...	...
99	...	...	...	...	...
100	...	...	...	...	...

TOTAL: Rp. 3.000,-

Disetujui: ...  
Tanggal: ...

**ACC "GIZI"**  
Printing & Copier

No. ...  
Tanggal: ...  
Kategori: ...  
Total Rp. 4.000,-

**ACC "GIZI"**  
Printing & Copier

No. ...  
Tanggal: ...  
Kategori: ...  
Total Rp. 4.000,-

**BERJAMA PLASTIK**  
JUAL BERSAMA BERSAMA PLASTIK & BERJAMA KIRI

DAFTAR PEMBELAN

No	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian
1	...	...	...	...	...
2	...	...	...	...	...
3	...	...	...	...	...
4	...	...	...	...	...
5	...	...	...	...	...
6	...	...	...	...	...
7	...	...	...	...	...
8	...	...	...	...	...
9	...	...	...	...	...
10	...	...	...	...	...
11	...	...	...	...	...
12	...	...	...	...	...
13	...	...	...	...	...
14	...	...	...	...	...
15	...	...	...	...	...
16	...	...	...	...	...
17	...	...	...	...	...
18	...	...	...	...	...
19	...	...	...	...	...
20	...	...	...	...	...
21	...	...	...	...	...
22	...	...	...	...	...
23	...	...	...	...	...
24	...	...	...	...	...
25	...	...	...	...	...
26	...	...	...	...	...
27	...	...	...	...	...
28	...	...	...	...	...
29	...	...	...	...	...
30	...	...	...	...	...
31	...	...	...	...	...
32	...	...	...	...	...
33	...	...	...	...	...
34	...	...	...	...	...
35	...	...	...	...	...
36	...	...	...	...	...
37	...	...	...	...	...
38	...	...	...	...	...
39	...	...	...	...	...
40	...	...	...	...	...
41	...	...	...	...	...
42	...	...	...	...	...
43	...	...	...	...	...
44	...	...	...	...	...
45	...	...	...	...	...
46	...	...	...	...	...
47	...	...	...	...	...
48	...	...	...	...	...
49	...	...	...	...	...
50	...	...	...	...	...
51	...	...	...	...	...
52	...	...	...	...	...
53	...	...	...	...	...
54	...	...	...	...	...
55	...	...	...	...	...
56	...	...	...	...	...
57	...	...	...	...	...
58	...	...	...	...	...
59	...	...	...	...	...
60	...	...	...	...	...
61	...	...	...	...	...
62	...	...	...	...	...
63	...	...	...	...	...
64	...	...	...	...	...
65	...	...	...	...	...
66	...	...	...	...	...
67	...	...	...	...	...
68	...	...	...	...	...
69	...	...	...	...	...
70	...	...	...	...	...
71	...	...	...	...	...
72	...	...	...	...	...
73	...	...	...	...	...
74	...	...	...	...	...
75	...	...	...	...	...
76	...	...	...	...	...
77	...	...	...	...	...
78	...	...	...	...	...
79	...	...	...	...	...
80	...	...	...	...	...
81	...	...	...	...	...
82	...	...	...	...	...
83	...	...	...	...	...
84	...	...	...	...	...
85	...	...	...	...	...
86	...	...	...	...	...
87	...	...	...	...	...
88	...	...	...	...	...
89	...	...	...	...	...
90	...	...	...	...	...
91	...	...	...	...	...
92	...	...	...	...	...
93	...	...	...	...	...
94	...	...	...	...	...
95	...	...	...	...	...
96	...	...	...	...	...
97	...	...	...	...	...
98	...	...	...	...	...
99	...	...	...	...	...
100	...	...	...	...	...

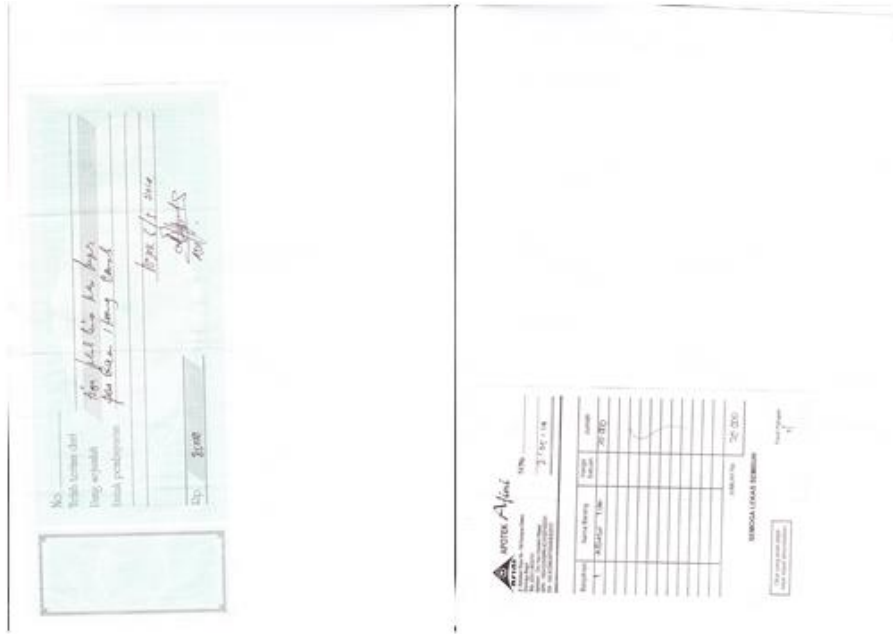
TOTAL: Rp. 28.000,-

Disetujui: ...  
Tanggal: ...

**BERJAMA PLASTIK**  
JUAL BERSAMA BERSAMA PLASTIK & BERJAMA KIRI

DAFTAR PEMBELAN

No	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian	Uraian
1	...	...	...	...	...
2	...	...	...	...	...
3	...	...	...	...	...
4	...	...	...	...	...
5	...	...	...	...	...
6	...	...	...	...	...
7	...	...	...	...	...
8	...	...	...	...	...
9	...	...	...	...	...
10	...	...	...	...	...
11	...	...	...	...	...
12	...	...	...	...	...
13	...	...	...	...	...
14	...	...	...	...	...
15	...	...	...	...	...
16	...	...	...	...	...
17	...	...	...	...	...
18	...	...	...	...	...
19	...	...	...	...	...
20	...	...	...	...	...
21	...	...	...	...	...
22	...	...	...	...	...
23	...	...	...	...	...
24	...	...	...	...	...
25	...	...	...	...	...
26	...	...	...	...	...
27	...	...	...	...	...
28	...	...	...	...	...
29	...	...	...	...	...
30	...	...	...	...	...
31	...	...	...	...	...
32	...	...	...	...	...
33	...	...	...	...	...
34	...	...	...	...	...
35	...	...	...	...	...
36	...	...	...	...	...
37	...	...	...	...	...
38	...	...	...	...	...
39	...	...	...	...	...
40	...	...	...	...	...
41	...	...	...	...	...
42	...	...	...	...	...
43	...	...	...	...	...
44	...	...	...	...	...
45	...	...	...	...	...
46	...	...	...	...	...
47	...	...	...	...	...
48	...	...	...	...	...
49	...	...	...	...	...
50	...	...	...	...	...
51	...	...	...	...	...
52	...	...	...	...	...
53	...	...	...	...	...
54	...	...	...	...	...
55	...	...	...	...	...
56	...	...	...	...	...
57	...	...	...	...	...
58	...	...	...	...	...
59	...	...	...	...	...
60	...	...	...	...	...
61	...</				



Gambar 12 Kumpulan nota pembelian