

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahap I

Percobaan 1 : Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik

Hasil pengukuran sampel tanah yang digunakan pada percobaan 1 meliputi pH tanah, kadar air, temperatur dapat dilihat pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. pH tanah, kadar air, temperatur sampel tanah gambut dan mineral

Jenis tanah	Kode Lokasi Sampel	pH	Kelembaban tanah (%)	Temperatur (°C)
Gambut	HTA 1	4,2	80	27
	HTA 2	4,5	80	27
	HTA 3	4,6	80	26
	HTA 4	4,3	80	27
	HTA 5	5,4	80	27
Mineral	CB TRP	6	15	33,3
	CP PLS	6,23	25	33,3
	KD	6,3	9,7	33
	SK	6	21	30,7

Keterangan:

HTA = Hutan Alam

CB TRP & PLS = lokasi sampel tanaman cabe jalan Palas dan Teropong

KD = lokasi sampel tanaman kedelai UPT Fakultas Pertanian UR

SK = lokasi sampel tanaman kelapa sawit jalan Kubang

Pada Tabel 1 terlihat perbedaan kondisi lingkungan pada jenis tanah pengambilan sampel. Jenis tanah gambut memiliki pH tanah menunjukkan tanah bersifat masam terlihat pada kisaran pH yaitu antara 4,2-5,4. Pada tanah mineral nilai pH berkisar antara 6-6,3. Hamdi (1982) menyatakan bahwa beberapa spesies bakteri penambat nitrogen non-simbiotik mampu bertahan pada pH dibawah 5,0. Tabel 1 menunjukkan temperatur pada tanah gambut cenderung lebih rendah dibanding tanah mineral, hal tersebut dikarenakan lahan gambut masih berupa hutan dan belum dibuka maupun diolah sedangkan pada tanah mineral merupakan ekosistem pertanian yang telah dibudidayakan beberapa jenis tanaman.

Temperatur tanah pada setiap lokasi pengambilan sampel sudah termasuk kedalam kondisi yang optimum bagi pertumbuhan bakteri. Sutedjo *et al.* (1996) menyatakan bahwa berdasarkan kisaran temperatur pertumbuhannya, mikroba dikelompokkan menjadi mikroba psikrofil, mesofil dan termofil. Psikrofil merupakan kelompok mikroba yang dapat tumbuh pada temperatur 0-30°C dengan

temperatur optimum 15°C. Mesofil merupakan kelompok mikroba yang dapat tumbuh pada temperatur minimum 15°C, temperatur optimum 25-37°C dan maksimum pada 45-55°C.

Tabel 1 menunjukkan nilai kelembaban yang berbeda pada tanah gambut dan mineral. Tanah gambut memiliki kelembaban rata-rata 80 % sedangkan pada tanah mineral berkisar 9,7%-25%. Kelembaban tanah berkaitan dengan kandungan air yang terdapat di dalam tanah. Kelembaban merupakan faktor yang mempengaruhi aktivitas bakteri penambat nitrogen, kelembaban yang tinggi menjadi kondisi anaerob. Kelembaban tanah yang ditemukan pada lokasi pengambilan sampel tanah mineral tergolong rendah. Rendahnya kelembaban tanah pada lokasi pengambilan sampel disebabkan oleh alih fungsi lahan yang telah menjadi lahan budidaya pertanian.

Kelembaban berhubungan dengan aktivitas enzim nitrogenase yang dimiliki oleh bakteri penambat nitrogen non simbiotik. Aktivitas nitrogenase bergantung pada kondisi ekologi yang berhubungan dengan kemampuan mikroorganisme menambat nitrogen. Enzim nitrogenase menjadi tidak aktif jika tekanan oksigen tinggi, oleh karena itu beberapa bakteri non simbiotik melakukan proteksi enzim nitrogenase terhadap oksigen dengan berbagai cara tergantung jenis mikroba (Danapriatna, 2010). Lebih lanjut Danapriatna (2010) mengatakan pada bakteri non-simbiotik anaerob, oksigen tidak menjadi masalah karena lingkungan hidup bakteri tersebut pada daerah yang rendah kadar oksigennya. Pada bakteri non-simbiotik aerob oksigen menjadi masalah karena untuk hidup bakteri tersebut membutuhkan oksigen yang banyak, akan tetapi enzim nitrogenase menjadi tidak aktif jika ada oksigen. Perlindungan enzim terhadap oksigen dengan cara mengkonsumsi O₂ secara berlebihan untuk respirasi dan *Azotobacter* yang mempunyai kapsul lendir yang tebal membantu melindungi enzim nitrogenase dari O₂.

Hasil isolasi dan seleksi bakteri penambat nitrogen pada tanah gambut dan mineral menunjukkan keragaman morfologi koloni dan morfologi sel (pewarnaan gram, bentuk sel dan motilitas). Data hasil pengamatan terhadap morfologi koloni dan sel bakteri tanah gambut tersaji pada Tabel 2 dan bakteri tanah mineral pada Tabel 3.

Tabel 2. Morfologi koloni dan sel bakteri penambat nitrogen non-simbiotik yang diisolasi dari tanah gambut

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		Gram
	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Bentuk Sel	Motilitas	
HTA1 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat	Putih	Licin	Seperti tombol	Basil	Motil	-
HTA1 10 ⁻⁴ NS-2	Bulat dengan tepian kerang	Putih	Berombak	Timbul	Basil	Motil	-
HTA1 10 ⁻⁴ NS-3	Konsentris	Putih	Siliat	Seperti Tombol	Basil	Motil	+
HTA1 10 ⁻⁵ NS-1	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Datar	Kokus	Non motil	+
HTA1 10 ⁻⁵ NS-4	Bulat	Putih	Licin	Datar	Kokus	Non Motil	-
HTA1 10 ⁻⁶ NS-2	Bulat	Putih	Berlekuk	Datar	Spiral	Motil	-
HTA2 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Seperti tombol	Basil	Non Motil	-
HTA2 10 ⁻⁴ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Datar	Basil	Motil	+
HTA2 10 ⁻⁵ NS-1	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Basil	Non Motil	+
HTA2 10 ⁻⁵ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Kokus	Non Motil	+
HTA2 10 ⁻⁶ NS-1	Berkonsentris	Putih	Berombak	Timbul	Basil	Non Motil	+
HTA2 10 ⁻⁶ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Basil	Motil	+
HTA2 10 ⁻⁶ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Basil	Motil	+
HTA3 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat	Krem	Licin	Cembung	Basil	Non Motil	-
HTA3 10 ⁻⁴ NS-5	Keriput	Putih	Siliat	Datar	Basil	Motil	+
HTA3 10 ⁻⁴ NS-7	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Berombak	Seperti tombol	Spiral	Non Motil	-
HTA3 10 ⁻⁵ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih tembus cahaya	Berlekuk	Datar	Spiral	Non Motil	+
HTA3 10 ⁻⁵ NS-4	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Spiral	Non Motil	+
HTA3 10 ⁻⁶ NS-3	Keriput	Putih tembus cahaya	Licin	Seperti tombol	Basil	Non Motil	+
HTA3 10 ⁻⁶ NS-5	Keriput	Putih	Licin	Seperti tombol	Basil	Non Motil	-
HTA4 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Timbul	Basil	Motil	-
HTA4 10 ⁻⁴ NS-2	Konsentris	Putih	Berombak	Cembung	Basil	Motil	+
HTA4 10 ⁻⁵ NS-3	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Basil	Motil	+
HTA4 10 ⁻⁶ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Datar	Basil	Motil	+
HTA4 10 ⁻⁶ NS-3	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Basil	Non Motil	-
HTA5 10 ⁻⁴ NS-1	Konsentris	Putih	Siliat	Seperti tombol	Spiral	Motil	-
HTA5 10 ⁻⁴ NS-2	Bulat	Putih	Seperti wol	Cembung	Basil	Non Motil	+
HTA5 10 ⁻⁵ NS-1	Konsentris	Putih	Tak beraturan	Datar	Spiral	Motil	-
HTA5 10 ⁻⁵ NS-3	Bulat	Putih	Licin	Cembung	Basil	Non Motil	-
HTA5 10 ⁻⁶ NS-1	Bulat dengan tepian menyebar	Putih	Tak beraturan	Seperti tombol	Basil	Motil	-
HTA5 10 ⁻⁶ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih tembus cahaya	Berlekuk	Seperti tombol	Basil	Motil	+

Tabel 3. Morfologi koloni dan sel bakteri penambat nitrogen non-simbiotik yang diisolasi dari tanah mineral

Kode isolate	Morfologi koloni				Morfologi sel		
	Warna	Elevasi	Tepian	Bentuk	Bentuk sel	Motilitas	Gram
BPN-NS CB 1	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS CB 2	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	-	+
BPN-NS CB 3	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	-
BPN-NS CB 4	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	-	+
BPN-NS CB 5	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	-	+
BPN-NS CB 6	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS CB 7	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS CB 8	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Batang	+	-
BPN-NS CB 9	Putih	Cembung	Licin	Bulat	Batang	+	+
BPN-NS KD 1	Bening	Datar	Licin	Bulat	Bulat	-	+
BPN-NS KD 2	Bening	Datar	Licin	Bulat	Bulat	-	+
BPN-NS KD 3	Bening	Datar	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS KD 4	Bening	Datar	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS KD 5	Putih	Datar	Licin	Bulat	Batang	+	+
BPN-NS KD 6	Putih	Datar	Licin	Bulat	Batang	+	+
BPN-NS KD 7	Putih	Datar	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS KD 8	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 9	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS KD 10	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS KD 11	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 12	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 13	Putih	Datar	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 14	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS KD 15	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 16	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 17	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 18	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Batang	+	+
BPN-NS KD 19	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS KD 20	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 21	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 22	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS KD 23	Bening	Cembung	Berlekuk	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS KD 24	Bening	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS SK 1	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 2	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS SK 3	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 4	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 5	Bening	Cembung	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 6	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS SK 7	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Batang	-	-
BPN-NS SK 8	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 9	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	-	-
BPN-NS SK 10	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 11	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Bulat	+	+
BPN-NS SK 12	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Basil	+	+
BPN-NS SK 13	Putih	Timbul	Licin	Bulat	Basil	+	+

Uji fisiologi merupakan uji yang digunakan untuk mengetahui sifat-sifat biokimia bakteri yang diisolasi dari sampel. Uji fisiologi yang dilakukan pada penelitian ini meliputi uji katalase, uji fermentasi karbohidrat (sukrosa, glukosa, maltosa dan manitol), uji indol, uji urea, uji sitrat dan uji VP. Hasil pengamatan uji fisiologi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik asal tanah mineral terlihat pada Tabel 4.

Berdasarkan karakterisasi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik pada tanah gambut diperoleh bakteri dengan karakter mendekati genus *Azotobacter* dan *Clostridium*. Isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada sampel tanah HTA1 memperlihatkan bentuk, tepian dan elevasi yang berbeda-beda dengan warna koloni yang didominasi oleh warna putih. Perbedaan warna isolat ditunjukkan oleh isolat HTA1 10^{-5} NS-1 dengan warna koloni putih tembus cahaya. Pengamatan motilitas bakteri menunjukkan hanya dua isolat yang bersifat non motil, yaitu isolat HTA1 10^{-5} NS-1 dan HTA1 10^{-5} NS-4. Pengamatan pewarnaan gram, bakteri didominasi oleh bakteri gram negatif. Bakteri gram positif hanya ditunjukkan oleh isolat HTA1 10^{-4} NS-3 dan HTA1 10^{-6} NS-1.

Isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada sampel tanah HTA2 memperlihatkan bentuk koloni yang hampir serupa satu dengan yang lainnya, yaitu bentuk tidak beraturan dan menyebar, hanya isolat HTA2 10^{-5} NS-1 dan HTA2 10^{-6} NS-1 memperlihatkan bentuk bulat dan berkonsentris. Pengamatan warna koloni masih didominasi oleh warna putih, perbedaan warna hanya ditunjukkan oleh isolat HTA2 10^{-5} NS-1. Pengamatan tepian dan elevasi koloni bakteri lebih menunjukkan keberagaman antara isolat satu dengan yang lainnya.

Isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada sampel tanah HTA3, menunjukkan bentuk, tepian dan elevasi yang berbeda satu dengan yang lain. Pengamatan warna koloni yang jelas terlihat berbeda pada isolat HTA3 10^{-4} NS-1 yaitu berwarna krem, sedangkan isolat lainnya masih berwarna putih dan putih tembus cahaya. Pengamatan motilitas menunjukkan sampel tanah HTA3 didominasi bakteri non motil, hanya terdapat satu isolat yang bersifat motil yaitu HTA3 10^{-4} NS-5.

Isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada sampel tanah HTA4 menunjukkan bentuk koloni, elevasi dan tepian yang berbeda-beda satu dengan

yang lain. Pengamatan warna koloni dan motilitas ditunjukkan oleh isolat HTA4 10^{-6} NS-3. Isolat HTA4 10^{-6} NS-3 menunjukkan warna koloni putih tembus cahaya dan sifat non motil.

Isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada sampel tanah HTA5 menunjukkan bentuk koloni, elevasi dan tepian yang beragam. Warna koloni bakteri masih didominasi oleh warna putih, perbedaan warna koloni hanya diperlihatkan oleh isolat HTA5 10^{-6} NS-4 yang berwarna putih tembus cahaya. Jumlah isolat bakteri yang bersifat motil ada 4 isolat, sedangkan 2 isolat bersifat non motil. Isolat-isolat bakteri pada sampel tanah HTA5 yang berhasil diisolasi dan diseleksi berdasarkan pengamatan pewarnaan gram terdapat dua isolat HTA5 yang bergram positif, yaitu HTA5 10^{-4} NS-2 dan HTA5 10^{-6} NS-4.

Berdasarkan pengamatan morfologi dan uji fisiologis telah dapat dilakukan identifikasi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik pada tanah mineral. Berdasarkan hasil identifikasi, terdapat 20 isolat bakteri yang berhasil diidentifikasi dengan mencocokkan karakter isolat yang diperoleh dengan genus bakteri *Azotobacter*, *Azospirillum* dan *Clostridium*.

Berdasarkan hasil pengamatan karakterisasi isolat, isolat dengan kode BPN-NS CB 6, BPN-NS CB 7, BPN-NS KD 6, BPN-NS KD 9, BPN-NS KD 24, BPN-NS SK 7 memiliki karakter makroskopis berupa warna koloni putih dan bening, elevasi cembung, datar dan timbul, tepian dari licin hingga berlekuk. Karakter mikroskopis yang dimiliki isolat ini berupa bentuk sel bulat dan batang sedangkan hasil pewarnaan gram menunjukkan gram negatif. Hasil uji biokimia isolat ini, uji katalase positif, uji fermentasi glukosa positif, uji fermentasi sukrosa negatif, uji fermentasi maltosa positif, uji sitrat negatif, uji indol negatif, uji VP negatif dan uji fermentasi manitol positif. Karakter makroskopis, mikroskopis, fisiologi dan biokimia isolat tersebut memiliki kesamaan dengan genus *Azospirillum* sehingga isolat tersebut digolongkan ke dalam genus *Azospirillum*. Hasil penelitian Attitalla *et al.* (2010) mendapatkan isolat genus *Azospirillum* dengan karakter fisiologi katalase positif, uji fermentasi glukosa positif, uji fermentasi sukrosa negatif, uji fermentasi maltosa positif, uji sitrat negatif, uji indol negatif, uji VP negatif dan uji fermentasi manitol positif.

Isolat dengan kode BPN-NS CB 1, BPN-NS CB 3, BPN-NS KD 4, BPN-NS KD 5, BPN-NS CDK 15, BPN-NS KD 17, BPN-NS KD 20, BPN-NS KD 22, BPN-NS SK 9, BPN-NS SK 10 memiliki bentuk koloni bulat, warna koloni putih dan bening dengan tepian cembung, datar dan timbul, bersifat motil dan non motil dan gram negatif. Isolat ini memiliki karakter biokimia katalase positif, fermentasi sukrosa, glukosa, maltosa dan manitol positif, nitrat positif, VP positif dan urea positif. Karakter makroskopis, mikroskopis, fisiologi dan biokimia isolat tersebut memiliki kesamaan dengan genus *Azotobacter* sehingga isolat tersebut digolongkan kedalam genus *Azotobacter*. Bentuk sel *Azotobacter* bermacam-macam sehingga bakteri ini dikenal dengan bentuk sel pleomorfik. Menurut Agustian *et al.* (2012) genus *Azotobacter* memiliki bentuk koloni bulat, warna koloni pada media padat terlihat putih dan bening, bersifat motil dan non motil.

Isolat dengan kode BPN-NS SK 8 dan BPN-NS SK 12 memiliki karakter makroskopis bentuk koloni bulat, warna putih, elevasi timbul dan tepian licin. Karakter mikroskopis gram negatif, bentuk sel bulat dan motil. Karakter biokimia, uji katalase negatif, fermentasi karbohidrat positif, urea negatif, sitrat negatif, indol negatif dan VP negatif. Karakter makroskopis, mikroskopis, fisiologi dan biokimia isolat tersebut memiliki kesamaan dengan genus *Clostridium* sehingga diduga isolat tersebut merupakan genus *Clostridium*. Pada penelitian ini diperoleh 2 isolat yang tergolong ke dalam genus *Clostridium*.

Tabel 4. Hasil pengamatan uji fisiologi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik dari tanah mineral

Kode Isolat	Uji Katalase	Uji Sukrosa	Uji Glukosa	Uji Manitol	Uji Maltosa	Uji Urea	Uji Sitrat	Uji Indol	Uji VP
BPN-NS CB 1	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS CB 2	+	+	+	+	-	-	+	-	-
BPN-NS CB 3	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS CB 4	+	-	-	+	-	-	+	-	-
BPN-NS CB 5	+	+	-	+	-	+	+	-	+
BPN-NS CB 6	+	-	+	+	+	+	-	-	-
BPN-NS CB 7	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS CB 8	+	+	-	+	+	-	+	-	+
BPN-NS CB 9	+	+	+	+	-	-	+	-	-
BPN-NS KD 1	+	+	-	+	+	-	-	-	+
BPN-NS KD 2	+	+	+	+	+	+	-	-	-
BPN-NS KD 3	+	+	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS KD 4	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 6	+	-	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS KD 7	+	+	-	-	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 8	+	+	-	+	+	-	+	+	+
BPN-NS KD 9	+	-	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS KD 10	+	+	+	-	+	-	+	+	+
BPN-NS KD 11	+	+	+	+	+	-	-	+	+
BPN-NS KD 12	+	+	+	-	+	+	-	-	+
BPN-NS KD 13	+	+	+	+	-	-	-	-	+
BPN-NS KD 14	+	+	-	+	+	+	+	-	+
BPN-NS KD 15	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 16	-	-	-	-	+	+	-	+	-
BPN-NS KD 17	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 18	+	-	+	+	+	+	-	-	-
BPN-NS KD 19	-	-	-	-	+	-	+	-	+
BPN-NS KD 20	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 21	+	+	-	+	+	-	+	-	+
BPN-NS KD 22	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS KD 23	+	+	-	+	-	-	-	-	+
BPN-NS KD 24	+	-	+	+	+	+	-	-	-
BPN-NS SK 1	+	+	+	-	+	+	-	+	+
BPN-NS SK 2	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS SK 3	+	+	-	+	-	-	-	+	-
BPN-NS SK 4	+	+	-	+	-	+	-	+	-
BPN-NS SK 5	+	+	+	+	+	+	-	-	+
BPN-NS SK 6	+	-	-	+	-	+	-	+	-
BPN-NS SK 7	+	-	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS SK 8	-	+	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS SK 9	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS SK 10	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BPN-NS SK 11	+	-	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS SK 12	-	+	+	+	+	-	-	-	-
BPN-NS SK 13	+	+	-	-	-	+	+	+	+

Kemampuan menambat N oleh bakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening di sekeliling bakteri pada media YEMA yang telah ditambahkan *Congo Red*. Zona bening yang terbentuk akan memudahkan warna merah media menjadi

bening di sekeliling bakteri. Hasil seleksi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik pada tanah gambut, terdapat 14 isolat yang mampu menghasilkan zona bening (halo) disekeliling bakteri (Tabel 5).

Bakteri penambat nitrogen non-simbiotik yang diisolasi pada tanah gambut memiliki nilai rasio zona bening antara 1-6 berbeda dengan tanah mineral nilai rasionya berkisar 1,24-5,28. Kemampuan bakteri dalam mengubah substrat dapat terlihat dari zona bening atau daerah halo yang terbentuk pada suatu medium tumbuh. Semakin besar daerah halo yang terbentuk mengindikasikan bakteri tersebut memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengubah substrat yang terkandung di dalam medium (Nurmalinda *et al.*, 2013). Zona bening yang terbentuk di sekitar koloni bakteri menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu menambat nitrogen. Besar kecilnya diameter zona bening yang terbentuk dari masing-masing isolat berbeda, dikarenakan kemampuan bakteri dalam menambat nitrogen juga berbeda-beda. Gambar 2 menyajikan representasi zona bening yang terbentuk pada bakteri.



Gambar 2. Bakteri penambat nitrogen non-simbiotik yang membentuk zona bening disekitar koloni dalam medium YEMA-red yang diinkubasi pada suhu ruang. a. zona bening disekitar koloni, b. koloni bakteri penambat nitrogen non-simbiotik

Tabel 5. Hasil pengamatan zona bening bakteri penambat nitrogen non-simbiotik asal tanah mineral dan tanah gambut

Kode Isolat	Ukuran Koloni	Diameter Zona Bening	Rasio Zona Bening
HTA1 10 ⁻⁴ NS-1	1 mm	5 mm	5
HTA1 10 ⁻⁴ NS-2	0,5 mm	3 mm	6
HTA1 10 ⁻⁴ NS-3	2 mm	5 mm	3
HTA1 10 ⁻⁵ NS-4	1 mm	3 mm	3
HTA1 10 ⁻⁶ NS-2	2 mm	1 mm	1
HTA2 10 ⁻⁴ NS-1	1 mm	2 mm	2
HTA2 10 ⁻⁴ NS-4	0,5 mm	2 mm	4
HTA2 10 ⁻⁵ NS-1	2 mm	1 mm	1
HTA2 10 ⁻⁵ NS-2	1 mm	1 mm	1
HTA4 10 ⁻⁴ NS-1	2 mm	6 mm	3
HTA4 10 ⁻⁴ NS-2	1 mm	5 mm	5
HTA5 10 ⁻⁴ NS-1	2 mm	6,5 mm	3
HTA5 10 ⁻⁴ NS-2	1 mm	5 mm	5
HTA5 10 ⁻⁶ NS-1	2 mm	1 mm	1
BPN-NS CB 1	2 mm	3,5 mm	1,75
BPN-NS CB 3	1 mm	3,2 mm	3,2
BPN-NS CB 5	1 mm	2,5 mm	2,5
BPN-NS CB 7	2 mm	4 mm	2
BPN-NS CB 8	3 mm	6 mm	3
BPN-NS CB 9	5 mm	7 mm	1,4
BPN-NS KD 1	1,6 mm	4,5 mm	2,81
BPN-NS KD 2	2,2 mm	12,7 mm	5,78
BPN-NS KD 3	2,7 mm	9,6 mm	3,55
BPN-NS KD 4	4,8 mm	9,4 mm	1,96
BPN-NS KD 5	1,1 mm	3,2 mm	2,81
BPN-NS KD 6	1,1 mm	2,5 mm	2,27
BPN-NS KD 7	3,1 mm	5,2 mm	1,68
BPN-NS KD 8	4,1 mm	5,1 mm	1,24
BPN-NS KD 9	1,3 mm	3,5 mm	2,69
BPN-NS KD 10	2,6 mm	11 mm	3,05
BPN-NS KD 11	3,6 mm	5,5 mm	1,53
BPN-NS KD 12	1,6 mm	4,4 mm	2,75
BPN-NS KD 13	1,1 mm	2,2 mm	2
BPN-NS KD 14	1,9 mm	2,7 mm	1,49
BPN-NS KD 15	1,6 mm	9,4 mm	1,96
BPN-NS KD 16	4,4 mm	6,6 mm	1,5
BPN-NS KD 17	1,8 mm	5,3 mm	2,94
BPN-NS KD 20	1,8 mm	3,7 mm	2,05
BPN-NS KD 21	2,2 mm	3,1 mm	1,40
BPN-NS KD 22	2,2 mm	3,8 mm	1,72
BPN-NS KD 23	3,2 mm	12 mm	3,75
BPN-NS KD 24	2,2 mm	4,6 mm	2,09
BPN-NS SK 3	3,5 mm	7,7 mm	2,2
BPN-NS SK 4	1 mm	4 mm	4
BPN-NS SK 5	1,6 mm	4,4 mm	2,75
BPN-NS SK 8	1,2 mm	3,6 mm	3
BPN-NS SK 9	1,3 mm	2 mm	1,54
BPN-NS SK 10	3,9 mm	6,1 mm	1,54
BPN-NS SK 12	2,1 mm	3,1 mm	1,48
BPN-NS SK 13	1,1 mm	3,1 mm	2,81

Tahap I

Percobaan 2 : Isolasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat

Hasil isolasi bakteri pelarut fosfat pada tanah gambut dan tanah mineral terlihat pada Tabel 6, 7 dan Tabel 8. Bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari tanah gambut seluruh isolatnya memiliki bentuk koloni bulat, warna koloni putih susu, tepian koloni licin dan elevasi cembung. Bentuk sel bakteri pelarut fosfat pada tanah gambut berbentuk basil (batang) dan seluruh isolat didominasi oleh gram positif. Hal berbeda ditunjukkan oleh bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari tanah mineral seperti terlihat pada Tabel 8.

Sampel	Lokasi pengambilan sampel	Jumlah isolat
Tanah Gambut	HTA 1	4
	HTA 2	3
	HTA 3	4
	HTA 4	2
	HTA 5	3
Tanah Mineral	CB TRP	8
	CB PLS	8
	KD	9

Tabel 7. Morfologi koloni dan sel bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari tanah gambut

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		
	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Bentuk Sel	Motilitas	Gram
HTA 1 10 ⁻⁴	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 1 10 ⁻⁵	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 1 10 ⁻⁶	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 1 10 ⁻⁷	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 2 10 ⁻⁵	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 2 10 ⁻⁶	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 2 10 ⁻⁷	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 3 10 ⁻⁴	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 3 10 ⁻⁵	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 3 10 ⁻⁶	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 3 10 ⁻⁷	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 4 10 ⁻⁶	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 4 10 ⁻⁷	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 5 10 ⁻⁴	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 5 10 ⁻⁵	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+
HTA 5 10 ⁻⁷	Bulat	Putih susu	Licin	Cembung	Basil		+

Tabel 8. Morfologi koloni dan sel bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari tanah mineral

Kode Isolat	Morfologi Koloni				Morfologi Sel		
	Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Bentuk Sel	Gram	Motilitas
BPF CB.TRP 10 ⁻⁵ U1(2)	Bulat	Putih	Licin	Datar	Basil	-	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U2(2)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Bulat	-	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U1(1)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Basil	-	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U1(2)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Basil	-	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U2(1)	Bulat	Putih	Licin	Datar	Basil	+	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁴ U2(2)	Bulat	Krem	Licin	Datar			
BPF CB.TRP 10 ⁻⁴ U2(1)	Bulat	Putih	Licin	Datar	Bulat	-	
BPF CB.TRP 10 ⁻⁶ U2(1)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung			
BPF CB.PLS 10 ⁻⁴ U2(1)	Bulat	Putih	Licin	Datar			
BPF CB.PLS 10 ⁻⁴ U2(2)	Bulat	Putih	Licin	Datar			
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U1(1)	Bulat	Kuning	Licin	Datar			
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U2(2)	Bulat	Putih	Tidak rata	Datar	Bulat	-	
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U1(2)	Bulat	Putih	Licin	Datar			
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U1(1)	Bulat	Putih	Licin	Datar	Basil	-	
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U2(1)	Bulat	Putih	Licin	Datar	Bulat	-	
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U2(2)	Bulat	Putih	Tidak rata	Datar			
BPF KD 10 ⁻⁷ U2(1)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁴ U1(2)	Konsentris	Kuning	Berombak	Cembung	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁴ U1(1)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁵ U2(2)	Keriput	Kuning	Berombak	Berbukit	Spiral	+	
BPF KD 10 ⁻⁶ U2(1)	Keriput	Kuning	Berlekuk	Berbukit	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁶ U2(2)	Keriput	Cokelat	Berlekuk	Berbukit	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁷ U1(2)	Bulat	Putih	Licin	Cembung	Basil	-	
BPF KD 10 ⁻⁷ U1(1)	Bulat	Putih	Licin	Cembung	Bulat	-	
BPF KD 10 ⁻⁵ U2(1)	Bulat	Putih	Berombak	Cembung	Bulat	-	

Tabel 9. Uji biokimia bakteri pelarut fosfat asal tanah gambut

Kode isolat	Uji biokimia								
	Glukosa	Sukrosa	Maltosa	Manitol	Urease	MR	VP	Indol	Katalase
HTA 1 10 ⁻⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 1 10 ⁻⁵	+	+	+	+	+	-	+	-	+
HTA 1 10 ⁻⁶	+	+	+	+	+	-	+	-	+
HTA 1 10 ⁻⁷	+	+	+	+	-	-	+	-	+
HTA 2 10 ⁻⁵	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 2 10 ⁻⁶	+	+	+	+	+	+	+	-	+
HTA 2 10 ⁻⁷	+	+	+	+	+	+	+	-	+
HTA 3 10 ⁻⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 3 10 ⁻⁵	+	+	-	+	+	+	+	+	+
HTA 3 10 ⁻⁶	+	+	+	+	-	+	+	+	+
HTA 3 10 ⁻⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 4 10 ⁻⁶	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 4 10 ⁻⁷	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 5 10 ⁻⁴	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HTA 5 10 ⁻⁵	+	+	+	+	+	+	+	-	+
HTA 5 10 ⁻⁷	+	+	+	+	+	+	+	-	+

Tabel 10. Uji biokimia bakteri pelarut fosfat asal tanah mineral

Kode isolate	Uji biokimia								
	Glukosa	Sukrosa	Maltosa	Manitol	Urea	MR	VP	Indol	Katalase
BPF CB.TRP 10 ⁻⁵ U1(2)	+	+	+	+	+	-	-	-	+
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U2(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	+
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U1(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U1(2)	-	-	-	+	-	+	-	-	-
BPF CB.TRP 10 ⁻⁷ U2(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	+
BPF CB.TRP 10 ⁻⁴ U2(2)	-	-	-	-	-	-	-	-	+
BPF CB.TRP 10 ⁻⁴ U2(1)	-	-	-	-	+	-	-	-	+
BPF CB.TRP 10 ⁻⁶ U2(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁴ U2(1)	-	+	+	+	+	+	-	-	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁴ U2(2)	-	+	-	+	+	+	+	+	-
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U1(1)	+	+	+	+	-	-	+	-	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U2(2)	+	+	+	+	+	+	-	+	-
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U1(2)	-	+	-	+	-	-	-	-	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁵ U1(1)	-	+	+	+	-	+	-	-	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U2(1)	-	+	+	+	+	-	+	+	+
BPF CB.PLS 10 ⁻⁶ U2(2)	+	+	+	+	+	-	-	-	+
BPF KD 10 ⁻⁷ U2(1)	+	+	+	-	-	-	-	+	+
BPF KD 10 ⁻⁴ U1(2)	+	+	+	+	-	-	+	+	-
BPF KD 10 ⁻⁴ U1(1)	+	+	-	-	-	-	-	-	+
BPF KD 10 ⁻⁵ U2(2)	+	+	+	+	-	-	+	+	-
BPF KD 10 ⁻⁶ U2(1)	+	+	+	+	-	+	-	-	+
BPF KD 10 ⁻⁶ U2(2)	+	+	+	+	+	-	+	+	+
BPF KD 10 ⁻⁷ U1(2)	-	+	-	+	-	-	-	-	+
BPF KD 10 ⁻⁷ U1(1)	-	+	-	+	-	-	+	+	+
BPF KD 10 ⁻⁵ U2(1)	-	-	-	-	-	-	-	-	+

Tabel 11. Rasio zona bening bakteri pelarut fosfat asal tanah gambut

Kode isolat	Diameter koloni	Diameter zona bening	Rasio zona bening
HTA 1 10 ⁻⁵	7,1 mm	12,1 mm	1,7
HTA 1 10 ⁻⁶	6,7 mm	8,2 mm	1,2
HTA 1 10 ⁻⁷	3,4 mm	6,1 mm	1,7
HTA 3 10 ⁻⁴	4,9 mm	19,8 mm	4,0
HTA 3 10 ⁻⁵	1,6 mm	2,9 mm	1,8
HTA 3 10 ⁻⁶	3,7 mm	8,6 mm	2,3
HTA 4 10 ⁻⁷	2,4 mm	3,6 mm	1,5
HTA 5 10 ⁻⁴	4,1 mm	6,1 mm	1,4
HTA 5 10 ⁻⁷	2,0 mm	3,2 mm	1,6

Berdasarkan pengamatan morfologi dan uji fisiologis telah dapat dilakukan identifikasi bakteri pelarut fosfat asal tanah gambut hingga ke tingkat genus. Secara keseluruhan dapat disimpulkan bahwa identifikasi secara morfologi bakteri pelarut fosfat dapat dikelompokkan menjadi 2 (dua) kelompok besar, yaitu genus *Bacillus* dan *Burkholderia*. Hal ini didasarkan pada pengamatan morfologi dari masing-masing isolat BPF baik secara makroskopis dan mikroskopis. Wolf dan

Barker (1968) mengemukakan bahwa *Bacillus* spp. merupakan bakteri gram positif yang berbentuk batang (basil), biasanya merupakan bakteri aerobik atau anaerobik fakultatif. Adapun ciri-ciri dari koloni bakteri *Bacillus* spp. adalah sebagai berikut : warna koloni putih susu atau agak krem, bentuk koloni bulat. Sel berbentuk batang dan lurus, berukuran 0,5-2,5 x 1,2-10 μm , dan sering tersusun dalam bentuk sepasang atau rantai, dengan ujung bundar atau empat persegi. Pewarnaan sel Gram +, katalase positif, metil red negatif, dan optimum pada suhu 30-37⁰C (Feliatra *et al.*, 2004). *Burkholderia* spp. merupakan bakteri gram negatif yang berbentuk batang lurus atau berliku, berukuran 0,5-1,0 x 1,5-4,0 μm , katalase positif dan menghasilkan poly- β -hydroxybutyrate (PHB), bersifat aerob dan tidak menghasilkan pigment *flourescent* (W. Chun dan J.B. Jones, 2001). Ditambahkan Palleroni *et.al* (1984) bahwa *Burkholderia* memiliki persamaan homology berdasarkan rRNA-DNA dengan *Pseudomonas*, sehingga *Burkholderia* dapat dikelompokkan juga dalam genus *Pseudomonas* tipe II.