

**ISOLASI BAKTERI NITRIFIKASI PADA DAERAH RIZOSFER
TANAMAN PADI LOKAL PULU MANDOTI (*Oryza sativa* L.)
DI DESA SALUKANAN, KABUPATEN ENREKANG,
SULAWESI SELATAN**

IIN KUSMAWATI

H411 08 253



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2013

**ISOLASI BAKTERI NITRIFIKASI PADA DAERAH RIZOSFER
TANAMAN PADI LOKAL PULU MANDOTI (*Oryza sativa* L.)
DI DESA SALUKANAN, KABUPATEN ENREKANG,
SULAWESI SELATAN**

IIN KUSMAWATI

H411 08 253

*Skripsi ini dibuat untuk melengkapi tugas akhir dan memenuhi syarat untuk
memperoleh gelar sarjana Biologi*

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2013

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI BAKTERI NITRIFIKASI PADA DAERAH RIZOSFER
TANAMAN PADI LOKAL PULU MANDOTI (*Oryza sativa* L.)
DI DESA SALUKANAN, KABUPATEN ENREKANG,
SULAWESI SELATAN**

Disetujui oleh:

Pembimbing Utama

**Drs. As'adi Abdullah, M.Si
NIP. 19620303 198903 1 007**

Pembimbing Pertama

**Dr. Fahrudin, M.Si
NIP. 19650915 199103 1 002**

Pembimbing Kedua

**Dr. Hj. A. Masniawati, M.Si
NIP. 19700213 199603 2 001**

KATA PENGANTAR



Assalamu alaikum Wr. Wb.

Alhamdulillah, dengan ketulusan dan kerendahan hati, segala puji bagi Allah SWT, sebaik-baik penolong, pengatur, dan yang menghendaki terselesainya penelitian ini. Salawat dan salam tak lupa tercurah bagi Rasulullah MUHAMMAD SAW, sebagai Nabi dan Rasul-Nya dalam membawa kabar gembira bagi seluruh alam semesta.

Penulisan skripsi dengan judul “ Isolasi Bakteri Nitrifikasi Pada Daerah Rizosfer Tanaman Padi Lokal Pulu Mandoti (*Oryza sativa* L.) di Desa Salukanan, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan”, merupakan salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Sarjana Sains (S.Si) Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Ucapan terima kasih penulis haturkan kepada ayahanda Hamzah dan ibunda SURIANTI Alam, dengan tulus dan ikhlas memberikan doa, kasih sayang, serta materi, sehingga penulis dapat menjalani masa perkuliahan hingga menyelesaikan studi di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin. Ucapan terima kasih tak lupa pula penulis ucapkan kepada adikku, Dewi Indri Safitri, Tri Edi Setiawan dan Sabilah yang telah banyak memberi dukungan serta keceriaan bagi penulis, serta keluarga yang senantiasa memberikan doa, dorongan, semangat, serta memberi banyak pengetahuan dan inspirasi.

Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan pula kepada Bapak Drs.As'adi Abdullah, M.Si., selaku pembimbing utama, Bapak Dr. Fachruddin, M.Si., selaku pembimbing pertama, dan Ibu Dr. Hj. A. Masniawati, M.Si., selaku pembimbing kedua, yang telah memberi pengalaman berharga, dorongan, semangat, waktu, tenaga, dan pikiran, selama penyusunan hingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.

Penulis menyadari bahwa banyak pihak yang telah berpartisipasi dan membantu dalam menyelesaikan penulisan skripsi ini. Untuk itu, iringan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis haturkan pula kepada :

1. Bapak Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin beserta staf yang telah memberikan bantuan dan kemudahan selama mengikuti perkuliahan.
2. Ketua dan Sekertaris Jurusan serta Staf Dosen Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin atas segala ilmu dan bimbingannya selama ini.
3. Ibu Prof. Hj. Dirayah Rauf Husain, DEA, selaku penasehat akademik yang telah banyak memberi ilmu dan menuntun penulis dalam menjalani masa perkuliahan hingga selesai.
4. Ibu Dr. Syafaraenan, M.Si, Bapak Dr. Eddyman W. Ferial, M.Si, Bapak Drs. Muh. Ruslan Umar, M.Si, dan Bapak Drs. Munif S. Hassan, M.Si, selaku tim penguji yang telah banyak memberi kritik dan saran dalam penulisan skripsi.
5. Kepala Laboratorium Bioteknologi Tanaman PKP UNHAS beserta staf, yang memberikan banyak kemudahan dan bantuan selama menjalani penelitian.

6. Rekan-rekan penelitian, Fatmawaty B., Fatmawati Samad, Marini Fitrianty M., Widiya Astuti, dan Risnawaty R., yang telah berbagi pengalaman, suka dan duka selama penelitian. Penulis tidak akan pernah habis mempunyai cerita tentang kalian.
7. Saudara (i) Mahasiswa Jurusan Biologi Angkatan 2008 (Mastoideus), yang selalu memberikan dukungan, doa, semangat, serta berbagi kesusahan, dan kebahagiaan bagi penulis.
8. Seluruh mahasiswa FMIPA Unhas angkatan 2008 yang telah berbagi kebersamaan, kebahagiaan, kesedihan dan keceriaan.
9. Seluruh mahasiswa Himpunan Mahasiswa Biologi Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin, atas kebersamaan dan pengalaman yang telah dibagi kepada penulis selama perkuliahan dan berorganisasi.
10. Pihak-pihak lain yang tidak dapat disebutkan satu per satu yang telah membantu dalam pelaksanaan penelitian dan penulisan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Namun, penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi yang membacanya.

Makassar, Mei 2013

Penulis

ABSTRAK

Penelitian isolasi bakteri nitrifikasi pada rizosfer tanaman padi lokal Pulu Mandoti (*Oryza sativa* L.) di desa Salukanan, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan, telah dilakukan dengan tujuan untuk mengisolasi bakteri nitrifikasi pada daerah rizosfer tanaman padi lokal Pulu Mandoti di desa Salukanan, untuk mengetahui jumlah total dan karakterisasi bakteri nitrifikasi yang meliputi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. Isolasi bakteri nitrifikasi dilakukan dengan metode *enrichment culture*. Perhitungan bakteri nitrifikasi dilakukan dengan metode SPC (*Standard Plate Count*). Hasil dari penelitian ini menunjukkan perbedaan jumlah dari bakteri nitrifikasi pada beberapa titik pengambilan sampel tanah. Jumlah bakteri nitrifikasi pada empat lokasi pengambilan sampel sekitar 9×10^4 - $1,3 \times 10^6$ cfu/gram tanah, untuk bakteri *Nitrosomonas* sp. dan 5×10^4 - $3,0 \times 10^6$ cfu/gram tanah untuk bakteri *Nitrobacter* sp. Karakterisasi isolat bakteri nitrifikasi, baik secara pengamatan morfologi koloni memperlihatkan banyak keragaman mulai dari bentuk, ukuran, tepi, warna, elevasi serta permukaan koloni. Sedangkan, untuk pewarnaan gram diperoleh 15 isolat dengan sifat gram negatif (-) dan 9 isolat dengan sifat gram positif (+).

Kata Kunci : Bakteri Nitrifikasi, Rizosfer, Padi Lokal, Pulu Mandoti.

ABSTRACT

Research on isolation of nitrifying bacteria in the rhizosphere of local rice Pulu Mandoti (*Oryza sativa* L.) in Salukanan village, Enrekang regency, South Sulawesi, had been done aims to isolate the nitrifying bacteria in the rhizosphere area of local rice plants, Pulu Mandoti, in Salukanan village, for determine the amount and characterization of bacterial which includes *Nitrosomonas* sp. and *Nitrobacter* sp. Isolation of bacterial was carried out by applying of *enrichment culture* method. Calculations of nitrifying bacteria by applying of SPC (*Standard Plate Count*) method. The results of this research showed differences in the amount of nitrifying bacteria found at several points of soil sampling. The number of nitrifying bacteria at four sampling locations around 9×10^4 - $1,3 \times 10^6$ cfu / g soil, for bacteria *Nitrosomonas* sp. and 5×10^4 - $3,0 \times 10^6$ cfu / g soil for bacteria *Nitrobacter* sp. Characterization of bacterial nitrification isolates, both morphological of colonies observation showed a lot of diversity ranging from the size, shape, edges, color, elevation, and surface of colonies. Meanwhile, for gram staining obtained 15 isolates with the nature of gram negative (-) and 9 isolates with the nature of gram positive (+).

Keywords : Nitrifying Bacteria, Rhizosphere, Local rice, Pulu Mandoti.

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
KATA PENGANTAR	iii
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
BAB I. PENDAHULUAN	1
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	4
I.3 Manfaat Penelitian	5
I.4 Waktu dan Tempat Penelitian	5
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	6
II.1 Mikroorganisme Tanah	6
II.2 Populasi Mikroorganisme Tanah	9
II.3 Rizosfer	10
II.4 Siklus Nitrogen	15
II.5 Nitrifikasi	16

II.6 Tanaman Padi (<i>Oryza sativa</i>)	18
BAB III. METODE PENELITIAN	20
III.1 Alat dan Bahan	20
III.1.1 Alat	20
III.1.2 Bahan	20
III.2 Prosedur Penelitian	21
III.2.1 Persiapan dan Pengambilan Sampel	21
III.2.2 Sterilisasi Alat	21
III.2.3 Pembuatan Medium	22
III.2.4 Isolasi Bakteri Nitrifikasi	23
III.2.5 Perhitungan Jumlah Mikroba	23
III.2.6 Karakterisasi Mikroba	24
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	25
IV. 1 Isolasi Bakteri Nitrifikasi	25
IV.2 Perhitungan Jumlah Bakteri Nitrifikasi	26
IV.3 Karakterisasi Bakteri Nitrifikasi	29
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	38
V.1 Kesimpulan	38
V.2 Saran	38
DAFTAR PUSTAKA	39
LAMPIRAN	41

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Daerah Rizosfer	11
2. Pembagian Daerah Akar	12
3. Struktur Morfologi Padi	18
4. Pertumbuhan Bakteri Nitrifikasi	26
5. Populasi Bakteri Nitrifikasi	27

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Jumlah Bakteri Nitrifikasi	27
2. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Sampel A	30
3. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Sampel B	31
4. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Sampel C	32
5. Karakteristik Morfologi Koloni Isolat Sampel D	33
6. Bentuk dan Sifat Gram Isolat Sampel A	34
7. Bentuk dan Sifat Gram Isolat Sampel B	35
8. Bentuk dan Sifat Gram Isolat Sampel C	35
9. Bentuk dan Sifat Gram Isolat Sampel D	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Prosedur Penelitian	42
2. Tabel Perhitungan Jumlah Bakteri Nitrifikasi	44
3. Pewarnaan Gram	45
4. Foto-foto Penelitian	49

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Kabupaten Enrekang terletak \pm 235 Km sebelah utara kota Makassar, mempunyai wilayah topografi yang bervariasi berupa perbukitan, pegunungan, lembah dan sungai dengan ketinggian 47-3.293 m dari permukaan laut serta tidak mempunyai wilayah pantai. Secara umum keadaan topografi wilayah didominasi oleh bukit-bukit dan gunung yaitu sekitar 84,96% dari luas wilayah Kabupaten Enrekang sedangkan yang datar hanya 15,04%. Kabupaten Enrekang merupakan kabupaten yang bercorak agraris, dengan jumlah penduduk 174.764 jiwa yang sebagian besar berprofesi sebagai petani. Padi lokal merupakan salah satu hasil dari sektor pertanian yang sangat diperhitungkan (Anonim, 2012).

Padi merupakan tanaman yang paling penting di daerah tropis, Indonesia. Hal ini dikarenakan padi merupakan makanan pokok di Indonesia sebagai nasi dari beras yang tentunya dihasilkan dari tanaman padi. Selain di Indonesia padi juga menjadi makanan pokok negara-negara di benua Asia lainnya seperti China, India, Thailand, Vietnam dan lain-lain (Amirullah, 2008).

Menurut Amirullah (2008), tanaman padi termasuk genus *Oryza* yang meliputi lebih kurang 25 spesies, tersebar di daerah tropik dan daerah sub tropik seperti Asia, Afrika, Amerika dan Australia. Menurut Chevalier dan Neguier padi berasal dari dua benua yaitu Asia dan Afrika Barat tropis dan subtropis. Di Indonesia pada mulanya tanaman padi diusahakan di daerah tanah kering dengan sistem ladang, akhirnya orang berusaha memantapkan hasil usahanya dengan cara mengairi daerah

yang curah hujannya kurang. Tanaman padi yang dapat tumbuh dengan baik di daerah tropis ialah *Indica*, sedangkan *Japonica* banyak diusahakan di daerah subtropika.

Tanaman padi dapat hidup baik di daerah yang berhawa panas dan banyak mengandung uap air. Curah hujan yang baik rata-rata 200 mm per bulan atau lebih, dengan distribusi selama 4 bulan, curah hujan yang dikehendaki per tahun sekitar 1500 -2000 mm. Suhu yang baik untuk pertumbuhan tanaman padi 23 °C. Tinggi tempat yang cocok untuk tanaman padi berkisar antara 0-1500 m dpl (Amirullah, 2008).

Pertumbuhan tanaman padi sangat dipengaruhi oleh struktur tanah yang ditempati. Tanah yang baik untuk pertumbuhan tanaman padi adalah tanah sawah yang kandungan fraksi pasir, debu dan lempung dalam perbandingan tertentu dengan diperlukan air dalam jumlah yang cukup. Padi dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang ketebalan lapisan atasnya antara 18 -22 cm dengan pH antara 4 -7 (Amirullah, 2008).

Tanah sebagai habitat mikrobia berfungsi sebagai medium alam untuk pertumbuhan dan untuk melakukan segala aktivitas fisiologisnya karena tanah menyediakan nutrisi, air, dan sumber karbon yang diperlukan untuk pertumbuhan dan aktivitasnya. Di dalam hal ini, lingkungan tanah meliputi faktor abiotik seperti sifat fisik dan kimia tanah dan biotik seperti organisme lain dan tanaman tingkat tinggi ikut berperan dalam menentukan tingkat pertumbuhan dan aktivitas mikrobia tersebut. Sebagai habitat mikrobia, tanah dihuni oleh lebih dari satu jenis mikrobia dengan berbagai ragam spesiesnya dan saling mempengaruhi (Rao, 1994).

Mikroorganisme tanah seperti bakteri dan jamur sangat mempengaruhi kesuburan tanah. Oleh karena itu, mikroorganisme merupakan salah satu aspek penting yang berperan dalam pembentukan suatu ekosistem. Mikroorganisme tanah juga bertanggung jawab atas pelapukan bahan organik dan pendaaran unsur hara. Dengan demikian, mikroorganisme mempunyai pengaruh terhadap sifat fisik dan kimia tanah (Anas, 1989).

Interaksi beberapa mikrobia dapat terjadi pada daerah rizosfer. Hal ini dikarenakan banyaknya kegiatan mikrobiologis dibandingkan kegiatan dalam tanah yang jauh dari perakaran tanaman. Rizosfer adalah bagian dimana terjadi pertemuan antara akar dan tanah (Ma'shum, 2003).

Menurut Ma'shum (2003), umumnya mikrobia yang mendiami daerah rizosfer, tidak berbeda dengan mikrobia yang tinggal di tanah, hanya saja populasi di bagian rizosfer jauh lebih tinggi. Pertumbuhannya diaktivasi oleh bahan nutrisi yang dilepaskan jaringan tanaman, misalnya asam amino, vitamin, dan zat hara lainnya. Sedangkan menurut Winarso (2005), mikroorganisme didalam tanah banyak ditemukan di daerah perakaran (*rhizosphere*). Sebagian besar organisme tanah yang berukuran kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan kasat mata terdapat pada daerah ini.

Siklus nitrogen merupakan siklus nutrien yang penting dalam tanah karena nitrogen adalah nutrien esensial yang sangat dibutuhkan oleh tanaman dan organisme hidup lainnya. Siklus Nitrogen yang berkaitan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi sangat ditentukan oleh mikroba tanah yang dipengaruhi kondisi lingkungan setempat,

khususnya bahan organik karbon, substrat nitrogen dan ketersediaan oksigen dalam tanah (Nirliani, 2007).

Mikroba rizosfer dapat memberi keuntungan bagi tanaman dikarenakan dapat melarutkan dan menyediakan mineral seperti N, P, Fe dan unsur lain, dapat menghasilkan vitamin, asam amino, auxin dan giberelin yang dapat menstimulir pertumbuhan tanaman, dan mikroba yang menguntungkan akan menghambat pertumbuhan bakteri lain yang patogenik dengan menghasilkan antibiotik (Sumarsih, 2008).

Jumlah total mikroorganisme yang terdapat didalam tanah digunakan sebagai indeks kesuburan tanah (*fertility indeks*), tanpa mempertimbangkan hal-hal lain. Tanah yang subur mengandung sejumlah mikroorganisme, populasi yang tinggi ini menggambarkan adanya suplai makanan atau energi yang cukup ditambah lagi dengan temperatur yang sesuai, ketersediaan air yang cukup, kondisi ekologi lain yang mendukung perkembangan mikroorganisme pada tanah tersebut (Anas, 1989).

Berdasarkan uraian di atas, maka perlu dilakukan isolasi mikroorganisme tanah (bakteri) terkhusus untuk bakteri nitrifikasi, serta menghitung jumlah total mikroorganisme yang terdapat pada daerah rizosfer tanaman padi khususnya dari jenis padi lokal didesa Salukanan, Kab.Enrekang.

I.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan isolat dan mengetahui jumlah serta karakteristik bakteri nitrifikasi pada rizosfer tanaman padi lokal Pulu Mandoti di Desa Salukanan, Kab.Enrekang.

I.3 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah untuk memberikan informasi mengenai jumlah dan keanekaragaman bakteri rizosfer yang dijumpai pada tanah yang ditumbuhi oleh tanaman padi lokal di kab. Enrekang.

I.4 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan November 2012 sampai Februari 2013. Bertempat di Laboratorium Bioteknologi Tanaman, Pusat Kegiatan Penelitian, Universitas Hasanuddin. Pengambilan sampel dilakukan pada bulan Juni 2012 bertempat di Desa Salukanan, Kabupaten Enrekang, Sulawesi Selatan.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Mikroorganisme Tanah

Mikrobiologi tanah merupakan suatu ilmu yang mempelajari mikroba tanah yang erat hubungannya dengan mikrobiologi pertanian. Produk buangan dari aktivitas manusia dan hewan serta sisa-sisa tanaman seringkali dibuang di tanah. Semua bahan ini pada akhirnya akan diuraikan oleh mikroba tanah dan berubah menjadi partikel yang merupakan bagian dari tanah dan dapat bermanfaat pada tanaman atau pertanian. Penguraian berbagai bahan dari bahan organik kompleks menjadi bahan anorganik yang sederhana dilaksanakan oleh mikroba. Bahan anorganik yang sederhana tersebut merupakan zat hara bagi tanaman. Hal ini menunjukkan betapa pentingnya aktivitas mikroba tanah dalam kehidupan di alam ini. Bila tanah dianalisis, akan merupakan campuran yang terdiri dari bahan organik, bahan anorganik, air, udara yang kesemuanya tercampur menjadi satu. Susunan rata-rata atas dasar volume yang dianggap optimal untuk keperluan pertanian, adalah 45% senyawa organik, 25% air, 25% udara, 5% senyawa organik (Brock *et al*, 2003).

Tanah merupakan medium alami tempat tanaman hidup, berkembang biak dan mati dan karenanya menyediakan sumber bahan organik selama bertahun-tahun karena dapat didaur ulang untuk nutrisi tanaman. Tanah menyediakan lingkungan fisik yang diperlukan untuk berpegang bagi sistem perakaran dan juga berfungsi sebagai reservoir udara, air dan nutrisi yang juga penting bagi pertumbuhan tanaman (Rao, 1994).

Tanah sebagai medium pertumbuhan tanaman tidak saja terdiri atas komponen padat, cair, dan gas tetapi juga mengandung jasad hidup (biota tanah) dalam jumlah yang besar. Di dalam tanah, biota melakukan berbagai ragam kegiatan yang berpengaruh terhadap kesuburan tanah, misalnya keterlibatan biota dalam proses pelapukan bahan organik, anorganik, dan atau pembentukan serta perbaikan struktur tanah (Ma'shum, 2003).

Tanah dihuni oleh bermacam-macam mikroorganisme. Mikroorganisme tanah seperti bakteri dan jamur sangat mempengaruhi kesuburan tanah. Oleh karena itu, mikroorganisme merupakan salah satu aspek penting yang berperan dalam pembentukan suatu ekosistem. Mikroorganisme tanah juga bertanggung jawab atas pelapukan bahan organik dan pendauran unsur hara. Dengan demikian, mikroorganisme mempunyai pengaruh terhadap sifat fisik dan kimia tanah (Anas, 1989).

Mikroorganise tanah penting dalam kesuburan tanah karena berperan dalam siklus energi, siklus hara, pembentukan agregat tanah, menentukan kesehatan tanah (*suppressive/conducive*) terhadap munculnya penyakit terutama penyakit tular tanah (*soil borne patogen*). Kesuburan tanah tidak hanya bergantung pada komposisi kimiawinya, melainkan juga pada ciri alami mikroorganisme yang menghuninya. Mikroorganisme yang menghuni tanah dapat dikelompokkan menjadi bakteri, actinomycetes, fungi, dan protozoa (Rao, 1994).

Selanjutnya, menurut Rao (1994), bakteri tanah yang paling umum termasuk dalam genus *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Clostridium*, *Achromobacter*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *Flavobacterium*, *Corynebacterium*, *Sarcina* dan *Mycobacterium*.

Genus yang paling umum dari Actinomycetes adalah *Streptomyces* (hampir 70%), *Nocardia* dan *Micromonospora*. Sedangkan genus-genus cendawan yang paling umum dijumpai dalam tanah adalah *Acrostalagmus*, *Aspergillus*, *Bortyitis*, *Cephalosporium*, *Gliocladium*, *Monilia*, *Penicillium*, *Scopulariopsis*, *Spicaria*, *Thchoderma*, *Trichothecium*, *Vertillicium*, *Alternatria*, *Cladosporium*, *Pullularia*, *Cylindrocarpon*, dan *Fusarium* (Fungi Imperfecti), *Absidia*, *Conninghamella*, *Mortierella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Zygoryachus*, dan *Phytium* (Phycomycetes), *Chaetomium* (ascomycetes) dan *Rhizoctonia* (Myselia sterilia yang gagal membentuk struktur reproduksi).

Mikroorganisme di dalam tanah banyak ditemukan di daerah perakaran (*rhizosphere*). Sebagian besar organisme tanah yang berukuran kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan kasat mata, sehingga disebut mikroorganisme yang memiliki peranan penting bagi pertumbuhan tanaman (Winarso, 2005).

Mikroorganisme yang hidup dalam tanah berperan dalam perubahan-perubahan yang terjadi didalam tanah, salah satunya adalah perubahan bahan organik menjadi substansi yang akan menyediakan nutrisi bagi tanaman, terutama pengubahan persenyawaan organik yang mengandung karbon, nitrogen, sulfur, dan fosfor menjadi persenyawaan anorganik atau disebut mineralisasi. Di dalamnya terlibat sejumlah besar perubahan kimiawi serta berperan berbagai macam spesies mikroba (Pelczar dan Chan, 2008). Mikroorganisme yang berperan dalam mengubah bahan organik menjadi substansi itu adalah bakteri, cendawan, algae, protozoa, dan virus (Sumarsih, 2003).

II.2 Populasi Mikroorganisme Tanah

Bakteri dan fungi merupakan mikroorganisme yang paling penting dalam tanah yang berhubungan dengan dekomposisi dan siklus hara. Selain itu, menurut Alexander (1977) dalam Rio Ardi (2009), pada tanah-tanah yang mempunyai aerasi yang baik, bakteri dan fungi sangat dominan, sebaliknya bakteri sendiri terlibat hampir di semua proses biologi dan perubahan kimia dalam lingkungannya yang mengandung sedikit atau tanpa O₂ (Alexander, 1977).

Populasi mikroorganisme di dalam tanah bersama dengan berbagai bentuk binatang dan berbagai jenis tanaman dengan tingkat yang lebih tinggi membentuk suatu sistem kehidupan yang tidak terpisah dari bahan mineral dan bahan organik didalam tanah. Selain bahan mineral dan bahan organik, populasi mikroorganisme didalam tanah juga dipengaruhi oleh keadaan iklim daerah, tanaman yang tumbuh, kelembaban tanah, serta berbagai reaksi yang berlangsung didalamnya (Sutedjo, 1996).

Peranan mikroorganisme di dalam proses pembentukan tanah tidaklah kecil, akumulasi bahan organik, siklus hara, dan pembentukan struktur tanah dipengaruhi oleh kegiatan mikroorganisme didalam tanah. Pengaruh vegetasi mempunyai peranan penting dalam mempengaruhi aktivitas mikroorganisme didalam tanah. Vegetasi yang tumbuh ditanah tersebut merupakan penghalang untuk terjadinya erosi sehingga mengurangi jumlah tanah, bahan organik dan mineral yang hilang yang berpengaruh terhadap aktivitas mikroorganisme didalam tanah (Hardjowigeno, 1987).

Ekosistem mikroba dalam tanah mencakup jumlah total mikroba, komposisi tanah, dan sifat fisika tanah. Ini berarti bahwa ekosistem mikroba tanah mencakup komponen biotik dan abiotik. Di dalam ekosistem tersebut terjadi interaksi antara

mikoba. Interaksi tersebut dapat bersifat netral, positif (mutualisme dan komensalisme), dan negatif (antagonisme, kompetisi, parasitisme dan predasi) (Ristiati *et al*, 2008).

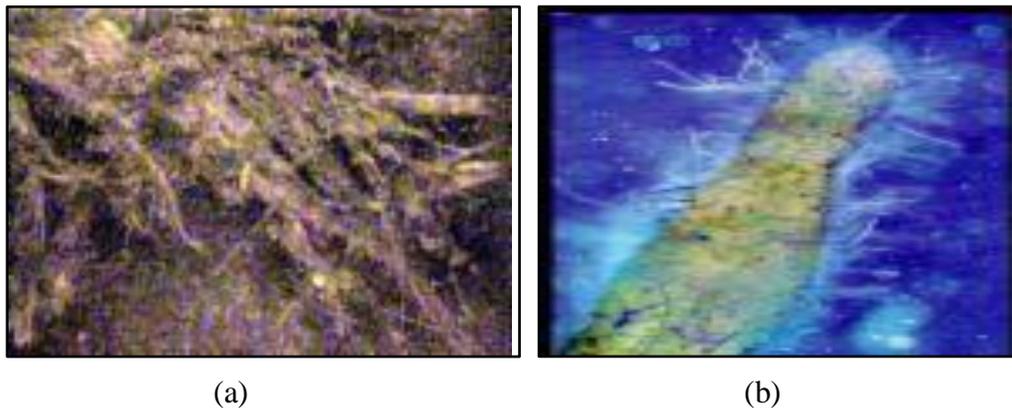
II.3 Rizosfer

Definisi secara umum menurut Hiltner (1904) , rizosfir sebagai suatu volume tanah yang mengelilingi akar, dimana dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroorganisme. Rhizosfer berasal dari kata *rhizo* dan *sphere.*, *rhizo* adalah akar, sedangkan *sphere* diartikan suatu zona yang mengelilingi suatu “*sentral point*” dimana menjadi tempat aktivitas komunitas (“*sociaty*”) dari beragam jenis mikroorganisme. Definisi lain dari Rhizosphere adalah zona kontak tanah (beberapa mm) dengan akar tanaman sebagai “*sentral point*”, dimana antara mikroorganisme dan akar terjadi interaksi dan interelasi, artinya aktivitas mikroorganisme di dalam zona tersebut akan dipengaruhi oleh eksudat akar yang diproduksi, sebaliknya metabolisme tanaman akan dipengaruhi oleh aktivitas mikroorganisme yang berada dalam zona tersebut.

Istilah rizosfer menunjukkan bagian tanah yang dipengaruhi perakaran tanaman. Rizosfer dicirikan oleh lebih banyaknya kegiatan mikrobiologis dibandingkan kegiatan di dalam tanah yang jauh dari perakaran tanaman. Intensitas kegiatan semacam ini tergantung dari panjangnya jarak tempuh yang dicapai oleh eksudasi sistem perakaran. Istilah “efek rizosfer” menunjukkan pengaruh keseluruhan perakaran tanaman terhadap mikroorganisme tanah. Maka akan lebih banyak jumlah bakteri, jamur dan actinomycetes dalam tanah yang termasuk rizosfer dibandingkan tanah yang tidak memiliki rizosfer. Beberapa faktor seperti tipe tanah,

kelembaban tanah, pH dan temperatur, dan umur serta kondisi tanaman mempengaruhi efek rizosfer (Rao, 1994).

Efek rizosfer selain tampak dalam bentuk melimpahnya jumlah mikroorganisme juga dalam adanya distribusi bakteri yang memiliki ciri mempunyai kebutuhan khusus, yaitu asam amino, vitamin-vitamin B, dan faktor pertumbuhan khusus yaitu kelompok nutrisi. Laju kegiatan metabolik mikroorganisme rizosfer itu berbeda dengan laju kegiatan metabolik mikroorganisme dalam tanah non-rizosfer (Rao, 1994). Daerah perakaran atau rizosfer tersaji pada Gambar 1.



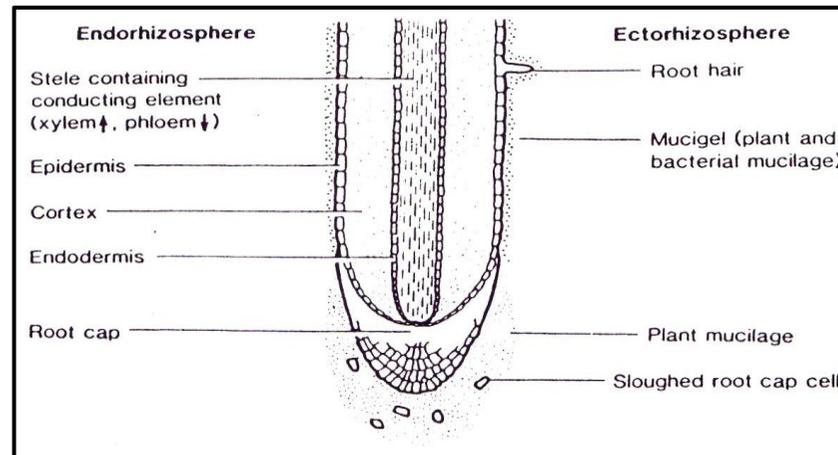
Gambar 1. (a) Perakaran (b) Daerah rizosfer

Rizosfer terbagi kedalam 2 zona utama, yaitu:

- a. Endorizosfer adalah lapisan sel akar atau zona rizosfer. Endorizosfir tersusun dari stele, epidermis, korteks, endodermis dan tudung akar.
- b. Ektorizosfer merupakan area di sekeliling akar, mulai dari zona kontak tanah/ media dengan permukaan akar (rizoplane) sampai beberapa mm (dapat sampai 5 mm), dimana zona tersebut dipengaruhi oleh eksudat akar. Akibat dari pengaruh

eksudat akar tersebut, maka terjadi pelekatan tanah membentuk agregat tanah.

Daerah pembagian akar, tersaji pada Gambar 2.



Gambar 2. Pembagian Daerah Akar

Rizosfer sebagai bagian dari tanah yang secara langsung dipengaruhi oleh substansi yang dikeluarkan dari akar ke dalam larutan tanah, sehingga tercipta kondisi yang menyenangkan bagi bakteri tertentu (Bruehl, 1987). Ia juga menggambarkan adanya organisme yang merugikan di sekitar akar dari tanaman yang sakit dan organisme yang bermanfaat di sekitar akar dari tanaman yang sehat. Menurut Katznelson (1965) dalam Bruehl (1987), fakta biologi utama dari rizosfer atau daerah yang dipengaruhi akar adalah jumlah yang banyak dan aktivitas yang tinggi dari mikroorganisme tanah dalam area ini dibandingkan dengan tanah tanpa akar. Di antara dua area ini terdapat area transisi di mana pengaruh akar menurun seiring dengan jarak. Biasanya daerah rizosfer merupakan lapisan tipis yang tetap menempel pada akar setelah tanah disekitar akar dihilangkan dengan cara menggoyangkan perakaran (Bruehl, 1987).

Menurut Wood (1989), rizosfer adalah bagian tanah di mana lebih banyak terdapat bakteri di sekitar akar tanaman daripada tanah yang jauh dari akar tanaman. Rizosfer juga dibedakan menjadi daerah permukaan akar (*rizosplan*) dan daerah sebelah luar dari akar itu sendiri (*ektorizosfer*). Selain menghasilkan efek biologi, akar juga mempengaruhi sifat kimia dan sifat fisika tanah, sehingga secara tidak langsung mempengaruhi mikroorganisme tanah.

Menurut Bruehl (1987) menyatakan rizoplan adalah habitat khusus atau lokasi aktivitas mikrobial. Rizoplan atau permukaan akar mendukung terjadinya aktivitas biologi yang tinggi serta memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap pengaruh akar pada mikroflora dan mikrofauna tanah. Analisa terhadap struktur halus atau lapisan epitel dari perakaran tanaman setelah diinokulasi dengan bakteri khusus menunjukkan bahwa bakteri menjadi lekat pada permukaan perakaran dengan bantuan dari lapisan eksternal yang bersifat musilagen atau disebut 'musigel' yang secara normal terdapat pada sistem perakaran yang sedang aktif tumbuh.

Daerah sekitar perakaran, rizosfer, relatif kaya akan nutrisi atau unsur hara dimana hasil dari fotosintesis tanaman hilang sebanyak 40% dari akar. Konsekuensinya dukungan rizosfer cukup besar dan kemampuan menggunakan populasi mikrobial aktif yang bermanfaat, netral atau yang merusak berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman. Pentingnya populasi mikrobial di sekitar rizosfer adalah untuk memelihara kesehatan akar, pengambilan nutrisi atau unsur hara, dan toleran terhadap stres atau cekaman lingkungan pada saat sekarang telah dikenal. Mikroorganisme menguntungkan ini dapat menjadi komponen yang signifikan dalam manajemen pengelolaan untuk dapat mencapai hasil, yang mana ditegaskan bahwa

hasil tanaman budidaya dibatasi hanya oleh lingkungan fisik alamiah tanaman dan potensial genetik bawaan (Dewi, 2007).

Menurut Dewi (2007), umumnya rizosfer dari kebanyakan tanaman mengandung bakteri *Gram negatif*, tidak berspora, berbentuk batang, dan terdapat pada daerah rizoplan. Beberapa genus bakteri ini adalah *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Cellulomonas*, *Micrococcus*, dsb., ditemukan dalam jumlah yang banyak namun ada juga yang tidak ditemukan sama sekali. Bakteri yang membutuhkan asam amino lebih banyak terdapat di daerah rizoplan dan daerah rizosfer dibandingkan tanah di luar rizosfer. Actinomycetes penghasil antibiotik lebih banyak terdapat dalam rizosfer dibandingkan tanah tanpa rizosfer.

Selanjutnya, dalam Dewi (2007), rizosfer dapat mengalami perubahan, di antaranya diakibatkan oleh: (1) penambahan tanah; (2) pemberian nutrisi melalui daun; dan (3) inokulasi artifisial biji atau tanah yang mengandung sediaan mikroorganisme hidup, terutama bakteri. Banyak percobaan telah dilakukan untuk meneliti pengaruh penambahan pupuk N, P, dan K terhadap mikroflora rizosfer.

Jumlah bakteri rizosfer meningkat pada tanah-tanah yang kering dibandingkan pada tanah-tanah basah. Temperatur dan kelembaban secara langsung berpengaruh terhadap mikroorganisme, dan secara tidak langsung terhadap tanaman. Pengaruh tidak langsung inilah yang kelihatannya lebih penting. Beberapa organisme secara nyata dapat langsung beradaptasi dengan rizosfer, namun dalam keberhasilannya membentuk koloni dengan akar dipengaruhi oleh adanya kompetisi dengan organisme lain dan kondisi tanamannya (Bruehl, 1987).

II.4 Siklus Nitrogen

Siklus nitrogen merupakan proses berantai yang sangat kompleks, dimana semua jasad, mikroba, tanaman dan hewan berperan didalamnya. Yang penting untuk diketengahkan adalah kemampuan dari sekelompok mikroba, baik yang hidup secara simbiosis ataupun hidup bebas, yang mempunyai kemampuan untuk memfiksasi nitrogen udara. Sehingga peranan kedua kelompok tersebut memfiksasi nitrogen udara, besar pengaruhnya terhadap nilai ekonomi tanah pertanian (Ristiati *et al*, 2008).

Siklus nitrogen merupakan siklus nutrien yang penting dalam tanah karena nitrogen adalah nutrien esensial yang sangat dibutuhkan oleh tanaman dan organisme hidup lainnya. Senyawa nitrogen menjadi salah satu faktor pembatas pertumbuhan di berbagai ekosistem termasuk ekosistem hutan. Siklus Nitrogen yang berkaitan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi sangat ditentukan oleh mikroba tanah yang dipengaruhi kondisi lingkungan setempat, khususnya bahan organik karbon, substrat nitrogen dan ketersediaan oksigen dalam tanah (Nirliani, 2007).

Sawah pada umumnya memiliki kondisi lingkungan yang tergenang dan kering sehingga memungkinkan adanya zona anaerob dan aerob. Kondisi reduktif terbentuk pada sistem sawah yang tergenang melalui proses bertahap sehingga proses metabolisme mikroba yang terlibat didalamnya juga berlangsung secara bertahap. Proses mineralisasi nitrogen berakibat terbentuknya amonium yang merupakan bentuk nitrogen anorganik yang paling tereduksi. Amonium dalam tanah merupakan titik awal serangkaian reaksi yang berakibat terbentuknya nitrit dan nitrat yang

diperantarai oleh aktivitas mikrob tertentu seperti pelaku nitrifikasi dan denitrifikasi (Rao, 1994).

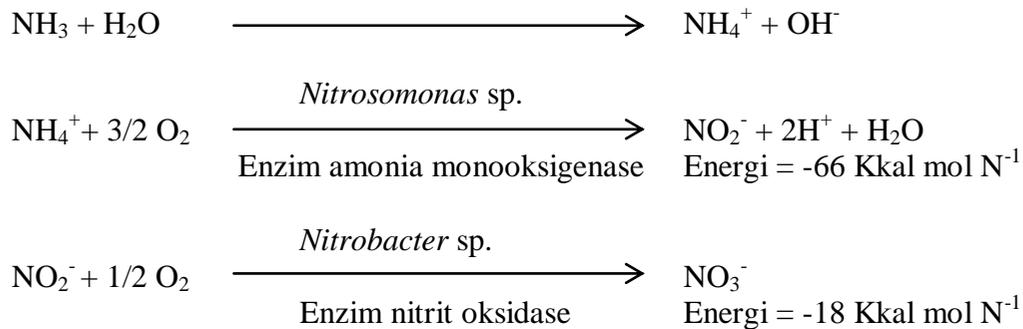
II.5 Nitrifikasi

Definisi nitrifikasi di dalam tanah secara umum adalah perubahan nitrogen secara biologis di dalam tanah dari bentuk tereduksi menjadi bentuk yang lebih teroksidasi atau dengan kata lain oksidasi biologis garam amonium dalam tanah menjadi nitrit dan selanjutnya oksidasi nitrit menjadi nitrat (Rao, 1994).

Oksidasi amonia ke nitrat dapat diselesaikan dengan 3 bentuk proses, yaitu proses kimiawi (*chemical*), proses *physicochemical*, dan proses biologis (*biological chemical*) yang merupakan proses yang amat penting. Mengenai proses biologis dari amonia menjadi nitrat sesungguhnya berlangsung melalui 2 tingkatan, yang selanjutnya dikenal sebagai proses nitritasi dan nitratasi (Sutedjo *et al*, 1996).

Menurut Spotte (1979), nitrifikasi adalah proses oksidasi amonia menjadi nitrit dan kemudian menjadi nitrat secara biologis oleh bakteri autotrof, umumnya berasal dari genus *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang merupakan genus yang terpenting dari bakteri autotrof. Bakteri autotrof yang melakukan proses nitrifikasi membutuhkan senyawa anorganik sebagai sumber energi dan karbondioksida sebagai sumber karbon. Nitrifikasi melalui dua tahapan reaksi, yaitu tahap pertama oksidasi amonium menjadi nitrit yang dilakukan oleh mikroba pengoksidasi amonium (*Nitrosomonas* sp.), pada tahap kedua oksidasi nitrit menjadi nitrat oleh mikroba pengoksidasi nitrit (*Nitrobacter* sp.).

Tahapan reaksi yang dilakukan oleh bakteri adalah sebagai berikut (Spotte, 1979) :



Nitrifikasi adalah suatu proses oksidasi senyawa nitrogen tereduksi oleh mikroba menjadi nitrit dan selanjutnya oksidasi nitrit menjadi nitrat. Sedangkan perubahan nitrat dan nitrit menjadi gas nitrogen dilakukan melalui proses denitrifikasi. Pada keadaan sawah yang kering, gas N₂O dihasilkan melalui proses nitrifikasi. Sedangkan pada daerah yang tergenang gas N₂O dihasilkan oleh mikroba pelaku denitrifikasi (Enwall *et al*, 2005).

Bakteri penitrifikasi termasuk ke dalam dua kelompok fisiologi yang berbeda, yang terpenting dari masing-masing kelompok adalah *Nitrosomonas* yang mengoksidasi amonium menjadi nitrit dan *Nitrobacter* yang mengoksidasi nitrit menjadi nitrat. Kedua macam bakteri itu berbentuk batang kecil, Gram negatif, tidak membentuk endospora, berflagella polar, dan bersifat aerob obligat (Imas *et al*, 1989).

Menurut Alexander (1999), *Nitrosomonas* dan *Nitrobacter* tergolong ke dalam bakteri kemoautotrof obligat. Kemoautotrof obligat memerlukan sumber

energi yang spesifik, misalnya saja *Nitrosomonas* membutuhkan amonium sebagai sumber energi dan *Nitrobacter* memerlukan nitrit.

II.6 Tanaman Padi (*Oryza sativa*)

Dari Wikipedia (2012), padi (bahasa latin: *Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman budidaya terpenting dalam peradaban. Meskipun terutama mengacu pada jenis tanaman budidaya, padi juga digunakan untuk mengacu pada beberapa jenis dari marga (genus) yang sama, yang biasa disebut sebagai padi liar. Padi diduga berasal dari India atau Indocina dan masuk ke Indonesia dibawa oleh nenek moyang yang migrasi dari daratan Asia sekitar 1500 SM. Produksi padi dunia menempati urutan ketiga dari semua serealia, setelah jagung dan gandum. Namun demikian, padi merupakan sumber karbohidrat utama bagi mayoritas penduduk dunia. Struktur morfologi tanaman padi tersaji pada Gambar 3.



Gambar. 3 Struktur Morfologi Padi

Klasifikasi Ilmiah (Tjitrosoepomo, 2007)

Regnum : Plantae

Divisio : Spermatophyta

Subdivisio : Angiospermae

Classis : Monocotyledoneae

Ordo : Poales

Familia : Poaceae

Genus : *Oryza*

Species : *Oryza sativa* L.

Padi termasuk dalam suku padi-padian atau Poaceae (sinonim: Graminae atau Glumiflorae). Terna semusim, berakar serabut; batang sangat pendek, struktur serupa batang terbentuk dari rangkaian pelepah daun yang saling menopang; daun sempurna dengan pelepah tegak, daun berbentuk lanset, warna hijau muda hingga hijau tua, berurat daun sejajar, tertutupi oleh rambut yang pendek dan jarang; bunga tersusun majemuk, tipe malai bercabang, satuan bunga disebut floret, yang terletak pada satu spikelet yang duduk pada panikula; buah tipe bulir atau kariopsis yang tidak dapat dibedakan mana buah dan bijinya, bentuk hampir bulat hingga lonjong, ukuran 3 mm hingga 15 mm, tertutup oleh palea dan lemma yang dalam bahasa sehari-hari disebut sekam, struktur dominan adalah endospermium yang dimakan (Wikipedia, 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan

III.1.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), cawan petri (Normax), gelas ukur (Pyrex), otoklaf (American), oven (Heraeus), inkubator (Heraeus), shaker, neraca analitik (Precisa), mikropipet, tip, ose (bulat dan lurus), objek glass, pipet tetes, corong, batang pengaduk, sendok tanduk, bunsen, botol sampel, rak tabung, penangas, vortex (Thermolyne), mikroskop (Nikon), enkas, dan *laminary air flow* (LAF) (Esco).

III.1.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah (tanah perakaran dan disekitar perakaran) tanaman padi lokal jenis Pulu Mandoti, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, KH_2PO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, Fe-sitrat, fenol red, KNO_2 , NaCl , K_2HPO_4 , $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, CaCO_3 , CaCl_2 , bactoagar, bactopecton, aquadest, minyak imersi, kapas, kain kasa, korek api, tisu roll, alkohol, spiritus, aluminium foil, cling wrap, kertas label, larutan Hucker's cristal violet (gram A), larutan Mordan lugol iodine (gram B), alkohol aseton (gram C), dan safranin (gram D).

III.2 Prosedur Penelitian

III.2.1 Persiapan dan Pengambilan Sampel

Persiapan untuk keperluan isolasi dimulai dengan preparasi alat dan bahan, yakni menyiapkan alat-alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian. Persiapan ini meliputi pengecekan kelengkapan alat dan bahan yang akan digunakan.

Pengambilan sampel tanah diambil dari daerah rizosfer tanaman padi lokal yaitu Pulu Mandoti di Desa Salukanan, Kab. Enrekang. Tanah pada daerah rizosfer tanaman tersebut, diambil pada bagian yang melekat pada perakaran tanaman dan juga tanah yang berada disekitar perakaran tanaman. Adapun lokasi pengambilan sampel dilakukan sebanyak dua titik yaitu pada bagian tepi dan tengah dari satu petak sawah tanaman lokal tersebut. Sampel tanah yang telah diambil ini kemudian dikeringudarkan dan selanjutnya dibawa ke laboratorium untuk dilakukan isolasi terhadap bakteri yang hidup disekitar daerah rizosfer tanaman padi tersebut.

III.2.2 Sterilisasi Alat

Alat-alat terutama dari bahan gelas yang akan digunakan dalam penelitian ini harus disterilkan lebih dahulu untuk menghindari terjadinya kontaminasi dari berbagai jenis mikroorganisme yang dapat menggagalkan penelitian.

Alat yang terbuat dari gelas atau kaca disterilkan dengan menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Sedangkan alat-alat yang terbuat dari logam misalnya ose dicuci dengan alkohol 70% kemudian dipijarkan di atas api bunsen sampai membara. Sterilisasi medium dengan menggunakan panas basah bertekanan dengan menggunakan otoklaf dengan pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15-30 menit.

III.2.3 Pembuatan Medium

A. Medium Kompleks Padat Nutrient Agar (NA)

Bahan-bahan yang diperlukan adalah air aquades 1000 ml, bactopecton 5 g, ekstrak ragi 5 g, dan bactoagar 15 g. Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan yang diperlukan kemudian dilarutkan dalam air aquades dengan pemanasan sehingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C.

B. Medium Spesifik Bakteri Nitritasi (Verstraete, dalam Iswandi, 1989).

Bahan-bahan yang diperlukan adalah 1000 ml air aquades, 0,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g KH_2PO_4 , 0,04 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 0,04 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,5 mg Fe-sitrat, dan 0,5 mg Fenol-red (pH 6.2-8.4). Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan takaran yang diperlukan kemudian dilakukan pemanasan sehingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C. Khusus untuk pembuatan media padat nitrifikasi, ditambahkan 15 g bactoagar ke dalam media.

C. Medium Spesifik Bakteri Nitratasi (Verstraete, dalam Iswandi, 1989).

Bahan-bahan yang diperlukan adalah 1000 ml air aquades, 0,006 g KNO_2 , 1,0 g K_2HPO_4 , 0,3 g NaCl , 0,1 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,03 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 g CaCO_3 , dan 0,3 g CaCl_2 . Semua bahan-bahan ditimbang sesuai dengan takaran yang diperlukan kemudian dilakukan pemanasan sehingga semua bahan larut. Selanjutnya disterilkan menggunakan otoklaf selama 15 menit, tekanan 2 atm dengan suhu 121°C. Khusus untuk pembuatan media padat nitrifikasi, ditambahkan 15 g bactoagar ke dalam media.

III.2.4 Isolasi Bakteri Nitrifikasi (Pratiwi, 2011).

Isolasi bakteri nitrifikasi dengan metode *enrichment culture* dilakukan dengan carasebanyak 1 g sampel tanah yang telah diperoleh diinokulasikan ke dalam masing-masing 50 ml media spesifik untuk bakteri nitritasi, dan media spesifik untuk bakteri nitratasi. Kultur cair berisi isolat tersebut dikocok dengan menggunakan shaker dan di inkubasi selama 7-10 hari.

Selanjutnya, dari masing-masing media spesifik diambil 1 ml untuk dilakukan pengenceran bertingkat sampai pengenceran tingkat 10^{-6} . Dari masing-masing pengenceran tersebut, diambil 1 ml dan dimasukkan dalam cawan petri steril. Selanjutnya dengan teknik tuang (*Pour Plate*) ditambahkan medium agar nitrifikasi spesifik. Diinkubasi selama 2x24 jam untuk dilakukan perhitungan terhadap jumlah bakteri nitrifikasi.

III.2.5 Perhitungan Jumlah Mikroba

Perhitungan jumlah mikroba, yaitu bakteri nitrifikasi dilakukan dengan menggunakan metode Standard Plate Count (SPC). Plate count / viable count didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel mikroorganisme hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah ditumbuhkan dalam media pertumbuhan dan lingkungan yang sesuai.

Setelah diinkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah mikroorganisme dalam suspensi tersebut. Selain itu, metode SPC (*Standard Plate Count*) dilakukan untuk mendapatkan jumlah koloni mikroba dengan mengacu kepada standar atau peraturan yang telah ditentukan dengan tujuan memperkecil kesalahan dalam perhitungan.

III.2.6 Karakterisasi Mikroba

A. Pengamatan Koloni

Morfologi dari koloni yang terbentuk pada cawan petri selanjutnya dilakukan pengamatan terhadap bentuk koloni pada media, warna koloni, elevasi koloni, ukuran koloni, tepi koloni, serta permukaan koloni.

B. Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan dengan cara membuat olesan tipis dari setiap isolat bakteri yang diperoleh dan direkat menggunakan panas. Olesan diwarnai dengan larutan kristal violet selama satu menit. Kemudian dibilas dengan aquadest dan direndam lagi menggunakan iodium selama satu menit. Selanjutnya larutan iodium dihilangkan dengan alkohol 95% selama 30 detik. Olesan dicuci dengan aquadest dan dikeringkan dengan kertas isap. Counter strain dengan safranin selama satu menit dan dicuci dengan aquadest lalu dikeringkan. Selanjutnya diamati dengan mikroskop menggunakan minyak imersi.

Bakteri gram positif mengikat kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dan kelihatan berwarna violet tua setelah pewarnaan. Sedangkan bakteri gram negatif tidak menahan kristal violet setelah dicuci dengan alkohol dengan demikian akan berwarna merah.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Isolasi Bakteri Nitrifikasi

Untuk Isolasi bakteri nitrifikasi pada rizosfer tanaman padi Pulu Mandoti, sumber isolat yang digunakan berupa sampel tanah yang berada dibagian akar dan disekitar bagian perakaran. Lokasi pengambilan sampel tanah ini dilakukan pada 2 tempat yaitu pada bagian pinggir/ tepi dan pada bagian tengah dari satu petak sawah tanaman jenis ini. Pengambilan sampel tanah dilakukan pada bagian akar dan disekitar perakaran dari tanaman Pulu Mandoti dengan alasan bahwa tanah merupakan salah satu media tumbuh dari berbagai macam organisme salah satunya, mikroba, karena memiliki sumber nutrisi yang kompleks bagi pertumbuhan bakteri, khususnya bakteri tanah.

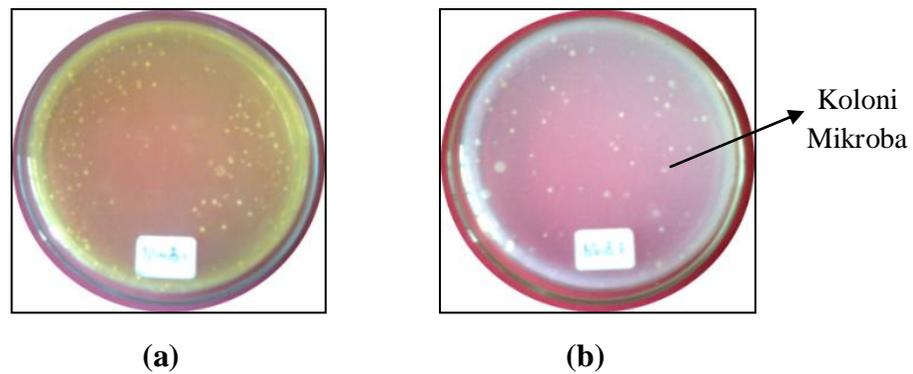
Isolasi bakteri nitrifikasi dilakukan dimana sampel tanah sebanyak 1 gram diinokulasikan dalam 50 mL medium spesifik cair untuk bakteri nitritasi (*Nitrosomonas* sp.) dan bakteri nitratasi (*Nitrobacter* sp.) kemudian dikocok dengan menggunakan shaker selama 7-10 hari. Adanya bakteri pengoksidasi amonium (*Nitrosomonas* sp.) diindikasikan dengan terjadinya perubahan warna media dari merah menjadi kuning yang disebabkan perubahan pH media akibat oksidasi amonium menjadi nitrit, sedangkan adanya bakteri penghasil nitrat (*Nitrobacter* sp.) diindikasikan dengan perubahan warna media dari bening menjadi keruh (Pratiwi, 2011). Pertumbuhan bakteri nitrifikasi (*Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp.) pada medium spesifik cair, tersaji pada Gambar 4.



Gambar 4.(a)Pertumbuhan bakteri nitritasi (*Nitrosomonas* sp.) pada medium nitrifikasi cair. (b) Pertumbuhan bakteri nitrifikasi (*Nitrobacter* sp.) pada medium nitrifikasi cair.

IV.2 Perhitungan Jumlah Bakteri Nitrifikasi

Perhitungan jumlah mikroba khususnya bakteri nitrifikasi pada daerah rizosfer tanaman padi Pulu Mandoti, dilakukan dengan menggunakan metode perhitungan cawan atau standard plate count (SPC). Sebelum dilakukan perhitungan, terlebih dahulu dilakukan pengenceran bertingkat hingga pengenceran tingkat 10^6 . Sebanyak 1 ml dari suspensi isolat pada medium nitrifikasi cair yang telah menunjukkan perubahan warna diambil untuk dilakukan pengenceran. Selanjutnya, dengan metode tuang (*Pour Plate*), dari tiga tingkat pengenceran terakhir, ditumbuhkan pada medium nitrifikasi padat untuk menghitung jumlah koloni yang terbentuk. Pertumbuhan bakteri nitrifikasi (*Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp.) pada medium nitrifikasi padat dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. (a) Populasi bakteri nitritasi (*Nitrosomonas* sp.) pada medium nitrifikasi padat. (b) Populasi bakteri nitratasi (*Nitrobacter* sp.) pada medium nitrifikasi padat.

Adapun hasil perhitungan jumlah total bakteri *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. pada penelitian ini, tersaji dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah bakteri nitrifikasi pada masing-masing lokasi pengambilan sampel tanah tanaman padi pulu mandoti

Sampel Tanah	Jumlah Mikroba (cfu/gram tanah)	
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	<i>Nitrobacter</i> sp.
A	$1,3 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$
B	$3,3 \times 10^5$	$3,0 \times 10^6$
C	$1,8 \times 10^5$	5×10^4
D	9×10^4	8×10^4

Keterangan :

- A = Sampel Tanah Perakaran Tanaman Bagian Tepi Sawah
- B = Sampel Tanah Perakaran Tanaman Bagian Tengah Sawah
- C = Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tanaman Bagian Tepi Sawah
- D = Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tanaman Bagian Tengah Sawah

Dari Tabel 1 hasil perhitungan jumlah total bakteri terlihat bahwa jumlah bakteri nitrifikasi dari jenis *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp., memperlihatkan adanya distribusi jumlah mikroba setiap sampel tanah yang sangat bervariasi.

Jumlah koloni total bakteri *Nitrosomonas* sp. berkisar antara 9×10^4 sampai $1,3 \times 10^6$ cfu/gram tanah. Pada sampel tanah perakaran tepi/ pinggir (A), jumlah total mikroba yang dihasilkan yaitu $1,3 \times 10^6$ cfu/gram tanah, sampel tanah perakaran tengah (B) yaitu $3,3 \times 10^5$ cfu/gram tanah, sampel tanah sekitar perakaran tepi/ pinggir (C) $1,8 \times 10^5$ yaitu cfu/gram tanah, dan terakhir untuk sampel tanah sekitar perakaran tengah (D) yaitu 9×10^4 cfu/gram tanah.

Jumlah koloni total bakteri *Nitrobacter* sp. berkisar antara 5×10^4 sampai $3,0 \times 10^6$ cfu/gram tanah. Pada sampel tanah perakaran tepi/ pinggir (A), jumlah total mikroba yang dihasilkan yaitu $4,1 \times 10^5$ cfu/gram tanah, sampel tanah perakaran tengah (B) yaitu $3,0 \times 10^6$ cfu/gram tanah, sampel tanah sekitar perakaran tepi/ pinggir (C) yaitu 5×10^4 cfu/gram tanah, dan terakhir untuk sampel tanah sekitar perakaran tengah (D) yaitu 8×10^4 cfu/gram tanah.

Dari Tabel 1 di atas, dapat dikatakan bahwa populasi mikroba, mencapai kepadatan jumlah yang maksimal pada daerah pengambilan sampel tanah di perakaran tanaman dibandingkan dari sampel tanah dari sekitar perakaran tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan jumlah mikroba khususnya bakteri pada daerah rizosfer.

Mikroorganisme didalam tanah banyak ditemukan di daerah perakaran (*rhizosphere*). Sebagian besar organisme tanah yang berukuran kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan kasat mata, sehingga disebut mikroorganisme yang memiliki peranan penting bagi pertumbuhan tanaman (Winarso, 2005).

Menurut Hiltner *dalam* Suryatmana *et al.*, 2009, zona rizosfer dibedakan menjadi endorizosfer dan ektorizosfer. Ektorizosfer merupakan area disekeliling akar, mulai dari zona kontak tanah dengan permukaan akar (rizosplane) sampai beberapa mm, dimana zona ini dipengaruhi oleh eksudat akar. Akibat dari pengaruh eksudat akar tersebut, maka terjadi pelekatan tanah membentuk agregat tanah, dan merupakan habitat banyak mikroba yang tumbuh dengan cepat.

IV.3 Karakterisasi Bakteri Nitrifikasi (*Nitrosomonas sp.* dan *Nitrobacter sp.*)

IV.3.1 Pengamatan Morfologi Koloni

Setelah dilakukan isolasi sampai pemurnian terhadap jenis bakteri nitrifikasi, selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi koloni dari isolat yang telah dimurnikan. Pengamatan morfologi koloni tersebut mencakup bentuk koloni pada media, warna koloni, ukuran koloni, tepi, elevasi, serta permukaan koloni.

Pada awal kegiatan pemurnian, koloni yang digores tidak menampilkan keragaman yang berarti, namun setelah beberapa kali pemurnian, koloni yang awalnya mempunyai satu warna berubah menjadi dua warna atau lebih. Koloni yang berbeda ini selanjutnya digores lagi hingga menunjukkan keseragaman. Hal ini dimungkinkan karena koloni masih belum terpisah dengan yang lainnya dan dicatat sebagai turunan atau progeni koloni sebelumnya.

Koloni bakteri nitrifikasi yang tumbuh pada media NA menampilkan permukaan koloni yang berbeda, serta warna yang beragam mulai dari bening, putih, putih susu, kuning, sampai merah muda kecoklatan, sedang bentuk koloninya mulai dari circular, spindle dan irregular. Sementara itu, bentuk tepi koloni terlihat berupa entire dan lobate. Elevasi koloni berbentuk flat, raised, sampai convex. Selain itu,

ukuran kolonipun terlihat beragam mulai dari pinpoint (titik), small (kecil), moderate (sedang), sampai large (besar). Perbedaan kenampakan morfologi ini mengindikasikan terdapat beberapa spesies yang berbeda yang terdapat pada lokasi pengambilan sampel tanah. Hasil pengamatan morfologi koloni beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah perakaran bagian tepi (A), tersaji pada Tabel 2.

Tabel 2. Karakteristik morfologi koloni isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah perakaran tanaman bagian tepi sawah (A)

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni		Warna Koloni	Tepi (Margin)	Elevasi	Permukaan koloni	Ukuran
		Cawan	Miring					
1.	NsmA2.1	Spindle	-	Putih susu	Entire	Raised	Halus mengkilap	Moderate
2.	NsmA2.2	Spindle	Spreading	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate
3.	NbcA1.1	Irregular	Echinulate	Bening	Lobate	Flat	Halus mengkilap	Moderate
4.	NbcA1.2	Spindle	Spreading	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate
5.	NbcA2.2	Spindle	Spreading	Bening	Lobate	Flat	Kering	Moderate
6.	NbcA5.3	Irregular	Spreading	Bening	Lobate	Flat	Halus mengkilap	Small

Keterangan :

Nsm : *Nitrosomonas* sp.

Nbc : *Nitrobacter* sp.

Pengamatan morfologi koloni dari isolat sampel A, menunjukkan bahwa dari 6 isolat bakteri nitrifikasi dari *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang diperoleh, terdapat 4 isolat yang berbentuk spindle dan 2 isolat yang berbentuk irregular pada medium cawan. Untuk warna koloni, terdapat 3 isolat dengan warna bening dan 3 isolat dengan warna putih susu. Tepi (margin) berupa entire terdapat pada 3 isolat dan 3 isolat lainnya bertepi lobate. Terdapat 1 isolat dengan elevasi raised, 2 isolat

dengan elevasi convex, dan 3 isolat dengan elevasi flat. Sementara itu, ukuran koloni yang terlihat berupa small (kecil) dan moderate (sedang), dengan permukaan yang halus mengkilap pada semua isolat.

Hasil pengamatan morfologi koloni beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah perakaran bagian tengah (B), tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Karakteristik morfologi koloni isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah perakaran tanaman bagian tengah sawah (B)

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni		Warna Koloni	Tepi (Margin)	Elevasi	Permukaan koloni	Ukuran
		Cawan	Miring					
1.	NsmB1.1	Circular	Effuse	Putih susu	Lobate	Raised	Kering kasar	Small
2.	NsmB2.1	Circular	Spreading	Putih	Entire	Flat	Kering	Small
3.	NsmB3.1	Circular	-	Putih	Entire	Raised	Kering	Pinpoint
4.	NsmB4.1	Circular	Spreading	Putih susu	Entire	Flat	Halus mengkilap	Small
5.	NbcB1.1	Circular	Spreading	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Small
6.	NbcB2.1	Irregular	Echinulate	Putih	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate

Keterangan :

Nsm : *Nitrosomonas* sp.

Nbc : *Nitrobacter* sp.

Pengamatan morfologi koloni dari isolat sampel B, menunjukkan bahwa dari 6 isolat bakteri nitrifikasi dari *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang diperoleh, terdapat 5 isolat yang berbentuk circular dan 1 isolat yang berbentuk irregular pada medium cawan. Untuk warna koloni, terdapat 3 isolat dengan warna putih, dan 3 isolat dengan warna putih susu. Tepi (margin) berupa entire terdapat pada 5 isolat dan 1 isolat lainnya bertepi lobate. Terdapat 2 isolat dengan elevasi raised, 2 isolat dengan elevasi convex, dan 2 isolat dengan elevasi flat. Sementara itu, ukuran koloni

yang terlihat berupa pinpoint (titik), small (kecil) dan moderate (sedang), dengan permukaan yang halus mengkilap dan kering kasar pada beberapa isolat.

Hasil pengamatan morfologi koloni beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah sekitar perakaran bagian tepi (C), tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Karakteristik morfologi koloni isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah sekitar perakaran tanaman bagian tepi sawah (C)

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni		Warna Koloni	Tepi (Margin)	Elevasi	Permukaan koloni	Ukuran
		Cawan	Miring					
1.	NsmC2.1	Circular	Effuse	Kuning	Entire	Raised	Halus mengkilap	Small
2.	NsmC3.1	Circular	Echinulate	Putih susu	Entire	Convex	Kering kasar	Small
3.	NbcC1.1	Circular	Echinulate	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Small
4.	NbcC3.1	Circular	Echinulate	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate
5.	NbcC4.1	Circular	Echinulate	Merah muda	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate

Keterangan :

Nsm : *Nitrosomonas* sp.

Nbc : *Nitrobacter* sp.

Pengamatan morfologi koloni dari isolat sampel C, menunjukkan bahwa dari 5 isolat bakteri nitrifikasi dari *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang diperoleh, semua isolat berbentuk circular pada medium cawan. Untuk warna koloni, terdapat 3 isolat dengan warna putih susu, 1 isolat dengan warna kuning dan merah muda kecoklatan. Tepi (margin) berupa entire terdapat pada kelima isolat. Terdapat 1 isolat dengan elevasi raised, 4 isolat dengan elevasi convex. Sementara itu, ukuran koloni yang terlihat berupa small (kecil) dan moderate (sedang), dengan permukaan yang halus mengkilap dan kering kasar pada beberapa isolat.

Hasil pengamatan morfologi koloni beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah sekitar perakaran bagian tengah (D), tersaji pada Tabel 5.

Tabel 5. Karakteristik morfologi koloni isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah sekitar perakaran tanaman bagian tengah sawah (D)

No	Kode Isolat	Bentuk Koloni		Warna Koloni	Tepi (Margin)	Elevasi	Permukaan koloni	Ukuran
		Cawan	Miring					
1.	NsmD2.1	Irregular	Spreading	Kuning	Lobate	Convex	Halus mengkilap	Small
2.	NsmD3.1	Circular	Echinulate	Putih susu	Entire	Convex	Halus mengkilap	Moderate
3.	NsmD4.1	Circular	Echinulate	Putih	Lobate	Raised	Kering kasar	Small
4.	NbcD2.1	Circular	Echinulate	Putih	Lobate	Convex	Halus mengkilap	Small
5.	NbcD3.1	Circular	Echinulate	Putih	Entire	Convex	Halus mengkilap	Small
6.	NbcD4.1	Circular	Effuse	Merah muda	Entire	Flat	Halus mengkilap	Moderate
7.	NbcD4.2	Circular	Echinulate	Merah muda	Entire	Convex	Halus mengkilap	Small

Keterangan :

Nsm : *Nitrosomonas* sp.

Nbc : *Nitrobacter* sp.

Pengamatan morfologi koloni dari isolat sampel D, menunjukkan bahwa dari 7 isolat bakteri nitrifikasi yaitu *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. yang diperoleh, terdapat 6 isolat yang berbentuk circular dan 1 isolat yang berbentuk irregular pada medium cawan. Untuk warna koloni, terdapat 3 isolat dengan warna putih, 1 isolat dengan warna putih susu, 1 isolat dengan warna kuning, dan 2 isolat dengan warna merah muda kecoklatan. Tepi (margin) berupa entire terdapat pada 4 isolat dan 3 isolat lainnya bertepi lobate. Terdapat 1 isolat dengan elevasi raised, 5 isolat dengan elevasi convex, dan 1 isolat dengan elevasi flat. Sementara itu, ukuran koloni yang

terlihat berupa pinpoint (titik), small (kecil) dan moderate (sedang), dengan permukaan yang halus mengkilap dan kering kasar pada 1 isolat.

Berdasarkan pengamatan morfologi bakteri nitrifikasi, terlihat karakteristik yang berbeda antara satu dengan lainnya. Hal ini mengindikasikan bahwa keberadaan populasi mikroba di dalam tanah khususnya daerah rizosfer tidak hanya didominasi oleh satu jenis saja, namun terdapat beberapa jenis yang dapat tumbuh dan berkembang.

IV.3.2 Pewarnaan Gram

Selain pengamatan koloni, karakterisasi lain yang dilakukan adalah pengamatan morfologi sel dan sifat gram dari isolat yang telah diperoleh. Hasil pewarnaan gram beberapa isolat bakteri nitrifikasi padalokasi pengambilan sampel tanah bagian tepi (A), tersaji pada Tabel 6.

Tabel 6. Bentuk dan sifat gram isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah perakaran tanaman bagian tepi sawah (A)

No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	NsmA2.1	Batang (Bacil)	-
2.	NsmA2.2	Bulat (Coccus)	-
3.	NbcA1.1	Batang (Bacil)	+
4.	NbcA1.2	Batang (Bacil)	-
5.	NbcA2.2	Batang (Bacil)	-
6.	NbcA5.3	Batang (Bacil)	+

Keterangan :

- + : Bakteri Gram Positif
- : Bakteri Gram Negatif

Hasil pewarnaan gram beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah perakaran bagian tengah (B), tersaji pada Tabel 7.

Tabel 7. Bentuk dan sifat gram isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah perakaran tanaman bagian tengah sawah (B)

No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	NsmB1.1	Batang (Bacil)	+
2.	NsmB2.1	Batang (Bacil)	-
3.	NsmB3.1	Batang (Bacil)	-
4.	NsmB4.1	Batang (Bacil)	+
5.	NbcB1.1	Batang (Bacil)	-
6.	NbcB2.1	Batang (Bacil)	-

Keterangan :

- + : Bakteri Gram Positif
- : Bakteri Gram Negatif

Hasil pewarnaan gram beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah sekitar perakaran bagian tepi (C), tersaji pada Tabel 8.

Tabel 8. Bentuk dan sifat gram isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah sekitar perakaran tanaman bagian tepi sawah (C)

No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	NsmC2.1	Batang (Bacil)	-
2.	NsmC3.1	Bulat (Coccus)	-
3.	NbcC1.1	Batang (Bacil)	-
4.	NbcC3.1	Batang (Bacil)	+
5.	NbcC4.1	Batang (Bacil)	-

Keterangan :

- + : Bakteri Gram Positif
- : Bakteri Gram Negatif

Hasil pewarnaan gram beberapa isolat bakteri nitrifikasi pada lokasi pengambilan sampel tanah sekitar perakaran bagian tengah (D), tersaji pada Tabel 9.

Tabel 9. Bentuk dan sifat gram isolat bakteri nitrifikasi *Nitrosomonas* sp. dan *Nitrobacter* sp. dari sampel tanah sekitar perakaran tanaman bagian tengah sawah (D)

No.	Kode Isolat	Bentuk Sel	Sifat Gram
1.	NsmD2.1	Bulat (Coccus)	+
2.	NsmD3.1	Batang (Bacil)	+
3.	NsmD4.1	Batang (Bacil)	+
4.	NbcD2.1	Bulat (Coccus)	-
5.	NbcD3.1	Batang (Bacil)	+
6.	NbcD4.1	Batang (Bacil)	-
7.	NbcD4.2	Batang (Bacil)	-

Keterangan :

- + : Bakteri Gram Positif
- : Bakteri Gram Negatif

Dari keseluruhan tabel hasil pewarnaan gram dan pengamatan morfologi sel menunjukkan bahwa secara umum sel berbentuk batang mendominasi bentuk sel isolat yang diperoleh. Selain itu sifat gram dari tiap isolat juga berbeda. Terdapat 15 isolat dengan sifat gram negatif (-) dan 9 isolat dengan sifat gram positif (+).

Pengelompokan sifat gram didasarkan pada warna yang dapat diikat oleh dinding sel bakteri. Hal ini sesuai dengan Pelczar *et al* (1989), yang menyatakan bahwa perbedaan warna bakteri pada saat pewarnaan gram dikarenakan adanya perbedaan struktur dan komposisi kimiawi dinding sel antara bakteri gram positif dan gram negatif. Bakteri gram negatif mengandung lipid, atau substansi seperti lemak dalam persentase lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri gram positif. Selama prosedur pewarnaan, perlakuan dengan alkohol terhadap bakteri gram negatif menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes atau

permeabilitas dinding sel. Akibatnya kompleks ungu kristal-Yodium yang telah memasuki dinding sel selama proses pewarnaan dapat diekstraksi, sehingga bakteri ini kehilangan warna ungu kristal-Yodium. Karena kandungan lipidnya yang lebih rendah, dinding sel bakteri gram positif menjadi terdehidrasi selama perlakuan dengan alkohol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang, dan kompleks ungu kristal-Yodium tidak dapat terekstraksi.

Penjelasan yang sama lainnya disampaikan oleh Sutedjo (1996), bahwa perbedaan antara bakteri positif dan negatif didasarkan pada perbedaan permeabilitas dinding sel antara kedua kelompok bakteri tersebut. Pada dinding sel bakteri gram positif, lapisan peptidoglikan berupa lapisan tunggal yang tebal dan kuat, tetapi pada dinding sel bakteri gram negatif susunan dinding sel dipisahkan oleh tiga celah yang membagi lapisan peptidoglikan menjadi lapisan dalam, lapisan intermediate atau lapisan lipopolisakarida dan lapisan luar atau lapisan lipoprotein. Warna merah pada bakteri gram negatif dikarenakan dinding sel bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan lebih sedikit serta pori-pori peptidoglikan yang lebih besar daripada gram positif.

Susunan dan komposisi sel bakteri memberikan pengaruh terhadap ketahanan hidup sel. Bakteri gram positif relatif lebih sulit memilih tempat hidupnya karena banyak spesies dari bakteri ini memerlukan persyaratan nutrisi yang rumit dan lengkap, sementara persyaratan nutrisi pada bakteri gram negatif lebih sederhana. Dalam hal ketahanan sel terhadap kondisi lingkungan, bakteri gram positif jauh lebih resisten dari pada gram negatif, sehingga bakteri gram positif memiliki toleransi tinggi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrim (Stewart, 1983).

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah :

1. Hasil isolasi bakteri tanah pada rizosfer tanaman padi lokal Pulu Mandoti, didesa Salukanan, diperoleh 24 isolat bakteri nitrifikasi.
2. Jumlah total bakteri nitrifikasi pada daerah rizosfer, berkisar antara 9×10^4 sampai $1,3 \times 10^6$ cfu/gram tanah untuk bakteri *Nitrosomonas* sp. Sedangkan, bakteri *Nitrobacter* sp. berkisar antara $4,1 \times 10^4$ sampai $3,0 \times 10^6$ cfu/gram tanah.
3. Karakterisasi morfologi bakteri nitrifikasi dari beberapa isolat menunjukkan adanya keragaman dalam segi bentuk, warna, tepi, permukaan, serta ukuran dari setiap koloni. Sedangkan untuk pewarnaan gram, isolat bakteri nitrifikasi baik itu *Nitrosomonas* sp. ataupun *Nitrobacter* sp., lebih didominasi gram negatif dengan sel berbentuk batang.

V.2 Saran

Sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kemampuan isolat bakteri nitrifikasi dalam mengubah amonia menjadi nitrit untuk *Nitrosomonas* sp. pada kadar konsentrasi amonia yang berbeda, sedang untuk *Nitrobacter* sp. dengan menggunakan kadar nitrit dengan konsentrasi yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

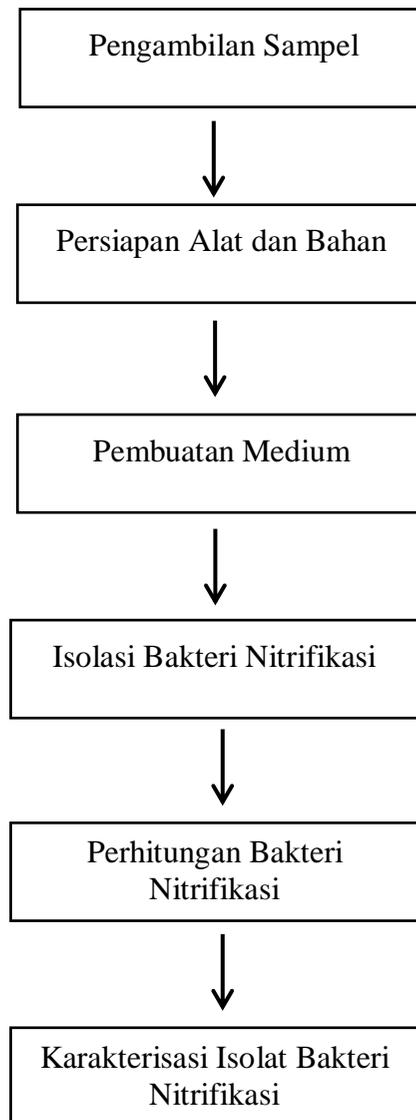
- Anas, I., 1989, *Biologi Tanah Dalam Praktek*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Bogor.
- Anonim, 2012, *Profil Kab. Enrekang*, <http://massenrengpulu.wordpress.com>, diakses pada tanggal 23 Mei 2012, pukul 08.00 WITA.
- Alexander, M., 1977, *Introduction to Soil Microbiology*, Academic Press, New York.
- Alexander, M., 1999, *Introduction to Soil Microbiology. 2nd Edition*, John Wiley and Sons, New York.
- Amirullah, 2008, *Budidaya Padi*, <http://teknis-budidaya.blogspot.com>, diakses pada tanggal 29 April 2012, pukul 10.00 WITA.
- Ardi, R., 2009, *Kajian Aktivitas Mikroorganisme Tanah Pada Berbagai Kelerengan Dan Kedalaman Hutan Alam*, Universitas Sumatera Utara.
- Bruehl, G.W., 1987, *Soilborne Plant Pathogens*, MacMillan Publishing Company, New York.
- Brock, T. D., Madigan, M.T., Martinko, J, 2003, *Biology of Microorganisms*. Sixth edition, Prentice Hall, New York.
- Dewi, I.R., 2007, *Rhizobacteria Pendukung Pertumbuhan Tanaman*, Universitas Padjadjaran, Jatinagor.
- Enwall K, Laurent P, Sara H, 2005, *Activity and composition of the denitrifying bacterial community respond differently to long-term fertilization*, Journal of Appl.Microbiol. 7: 8335-8343.
- Hardjowigeno, S., 1987, *Ilmu Tanah*, Medyatama Sarana Perkasa, Jakarta.
- Imas, T., R.S. Hadioetomo, A.W. Gunawan, dan Y. Setiadi, 1989, *Mikobiologi Tanah II*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Iswandi, A., 1989, *Biologi Tanah dalam Praktek Bagian I*, Pusat Antar Universitas Bioteknologi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Ma'shum, M., 2003, *Biologi Tanah*, CPIU Pasca IAEUP, Jakarta.
- Nirliani, 2007, *Aktivitas Bakteri Denitrifikasi Asal Sawah di Bogor, Jawa barat*, IPB, Bogor.

- Nurhayati, H., 2006, *Isolasi dan seleksi bakteri penambat nitrogen non simbiotik dari lahan kering masam*, Universitas Islam Negeri, Malang.
- Pelczar, M.J. dan E.C.S., Chan, 2008, *Dasar-Dasar Mikrobiologi*, Edisi 2, Terjemahan Hadioetomo, R.S., Imas, T., Tjitrosomo, S.S., dan Angka, S.L. UI Press, Jakarta.
- Pratiwi, Y.R., 2011, *Isolasi dan seleksi bakteri penitrifikasi dari sampel tanah di sekitar kandang ternak di kabupaten bogor*, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Rao, S.N.S., 1994, *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Ristiati, N.P., S. Muliadihardja, dan F. Nurlita, 2008, *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Non-Simbiosis dari Dalam Tanah*, *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Sains & Humaniora* 2(1): 68-80.
- Sumarsih, S., 2003, *Mikrobiologi dasar*, Fakultas Pertanian UPN Veteran, Yogyakarta.
- Sumarsih, 2008, *Mikroba dan kesuburan tanah*, <http://files.wordpress.com>, diakses pada tanggal 29 April 2012, pukul 10.00 WITA.
- Sutedjo, M. M., 1996, *Mikrobiologi Tanah*, PT. Rineka Cipta, Jakarta.
- Spotte, S., 1979, *Fish and Invertebrate Culture, Water Management in Closed System, 2nd Edition*, A Willey Int. Pub. John Willey and Sons, New York.
- Stewart, W.D.P., 1983, *Nitrogen Fixation By Free-Living Micro-Organism*, Cambridge University Press, London.
- Tate, R. L., 2000, *Soil Microbiology*, second edition, Jhon Wiley & Sons, Inc, New York.
- Tjitrosoepomo, G., 2007, *Taksonomi Tumbuhan (Spermatophyta)*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Winarso, 2005, *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*, PT. Rineka Cipta, Jakarta.
- Wikipedia, 2012, *Padi*, <http://id.wikipedia.org/>, diakses pada tanggal 7 April 2012, pukul 16.00 WITA.
- Wood, M., 1989, *Soil biology*, Blackie and Son Ltd, New York.

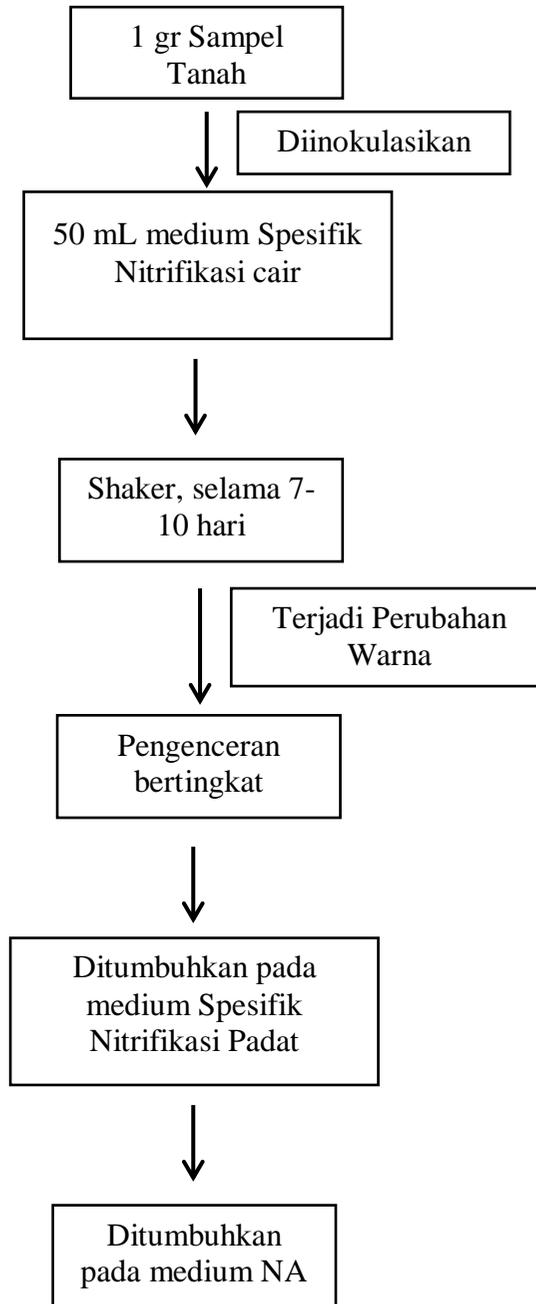
LAMPIRAN

I. Skema Prosedur Penelitian

A. Prosedur Kerja Secara Umum



B. Isolasi Bakteri Nitrifikasi



II. Tabel Perhitungan Jumlah Bakteri Nitrifikasi

a. Sampel Tanah Akar Tepi Sawah		
Tingkat Pengenceran	Jumlah Mikroba (cfu/gram tanah)	
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	<i>Nitrobacter</i> sp.
10^{-1}	TNTC	504
10^{-2}	43	376
10^{-3}	424	145
10^{-4}	129	41
10^{-5}	43	0
10^{-6}	7	0
Jumlah	$1,3 \times 10^6$	$4,1 \times 10^5$

b. Sampel Tanah Akar Tengah Sawah		
Tingkat Pengenceran	Jumlah Mikroba (cfu/gram tanah)	
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	<i>Nitrobacter</i> sp.
10^{-1}	266	TNTC
10^{-2}	144	368
10^{-3}	65	109
10^{-4}	33	4
10^{-5}	0	30
10^{-6}	0	6
Jumlah	$3,3 \times 10^5$	$3,0 \times 10^6$

c. Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tepi Sawah		
Tingkat Pengenceran	Jumlah Mikroba (cfu/gram tanah)	
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	<i>Nitrobacter</i> sp.
10^{-1}	TNTC	TNTC
10^{-2}	340	336
10^{-3}	212	69
10^{-4}	18	5
10^{-5}	8	0
10^{-6}	2	0
Jumlah	$1,8 \times 10^5$	5×10^4

d. Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tengah Sawah		
Tingkat Pengenceran	Jumlah Mikroba (cfu/gram tanah)	
	<i>Nitrosomonas</i> sp.	<i>Nitrobacter</i> sp.
10 ⁻¹	TNTC	TNTC
10 ⁻²	235	161
10 ⁻³	94	63
10 ⁻⁴	9	8
10 ⁻⁵	0	5
10 ⁻⁶	0	1
Jumlah	9x10 ⁴	8x10 ⁴

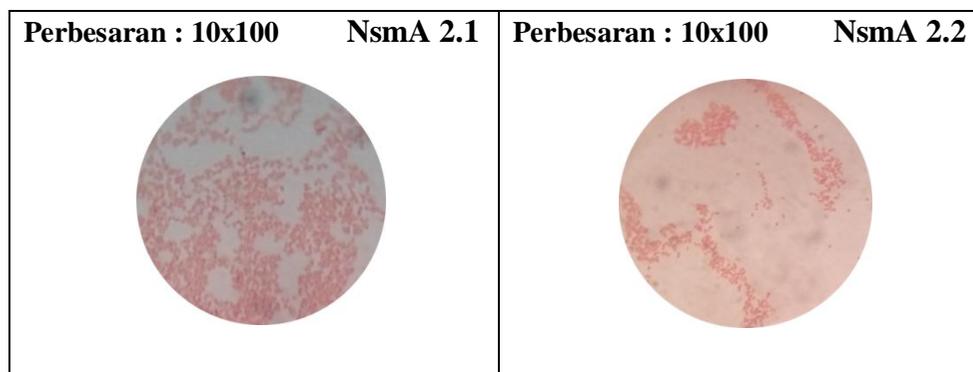
Keterangan :

TNTC = Too Numerous To Count (Terlalu banyak Untuk Dihitung)

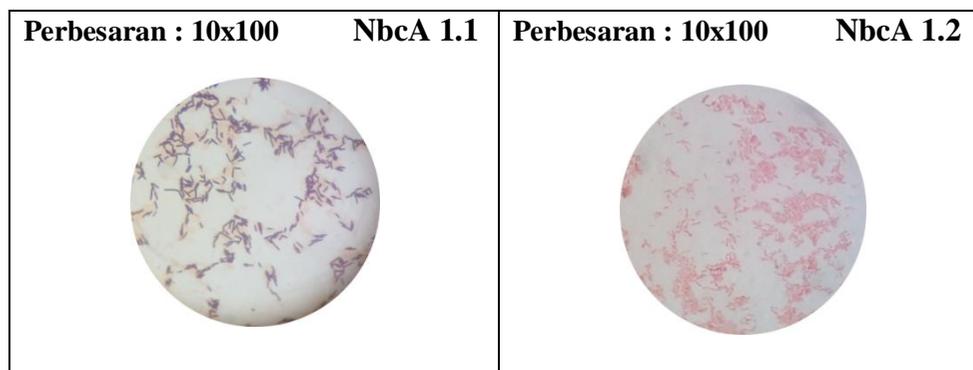
III. Pewarnaan Gram

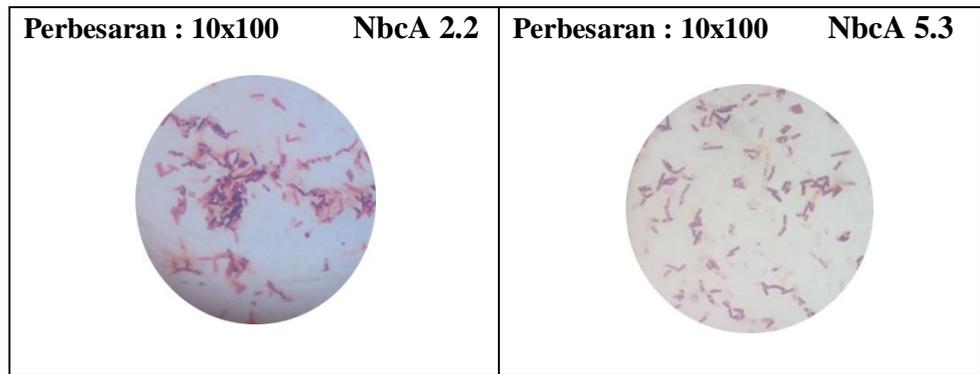
a. Sampel Tanah Perakaran Tanaman Bagian Tepi Sawah (A)

➤ *Nitrosomonas* sp.



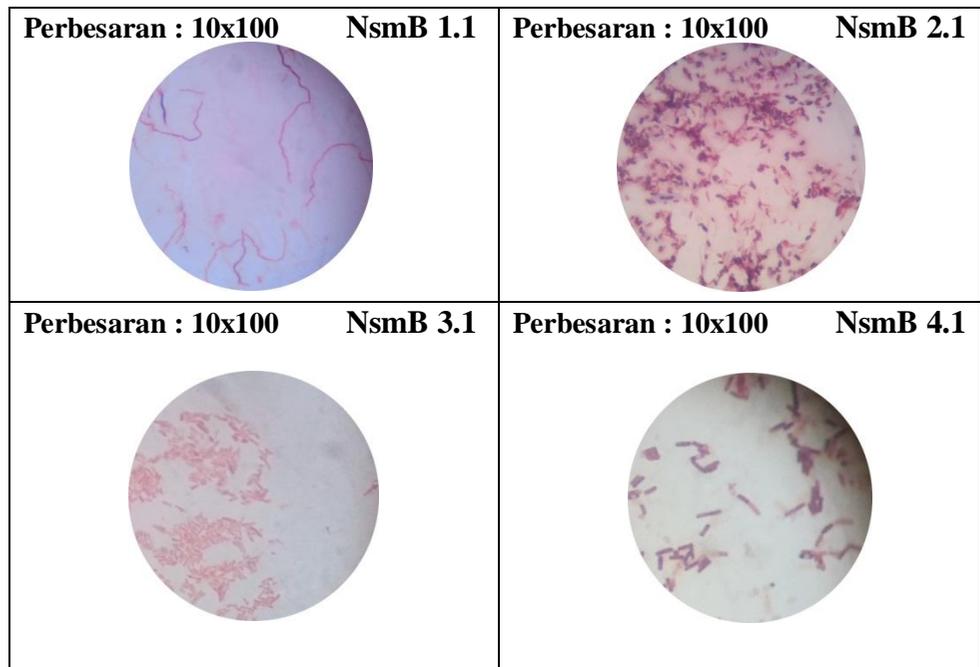
➤ *Nitrobacter* sp.



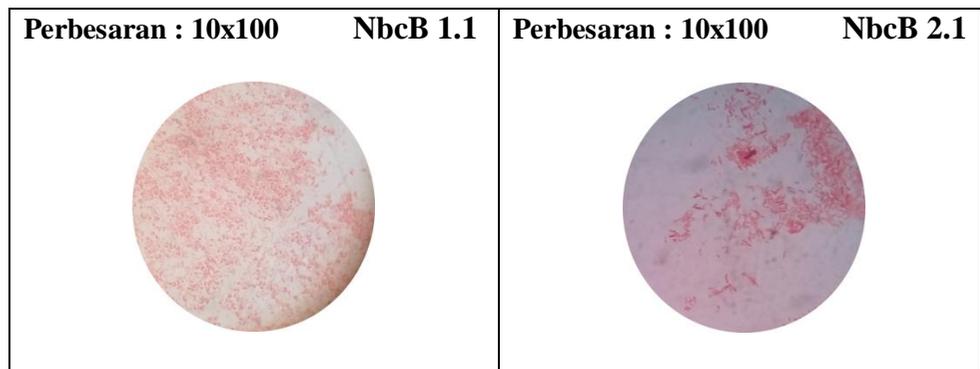


b. Sampel Tanah Perakaran Tanaman Bagian Tengah Sawah (B)

➤ *Nitrosomonas* sp.

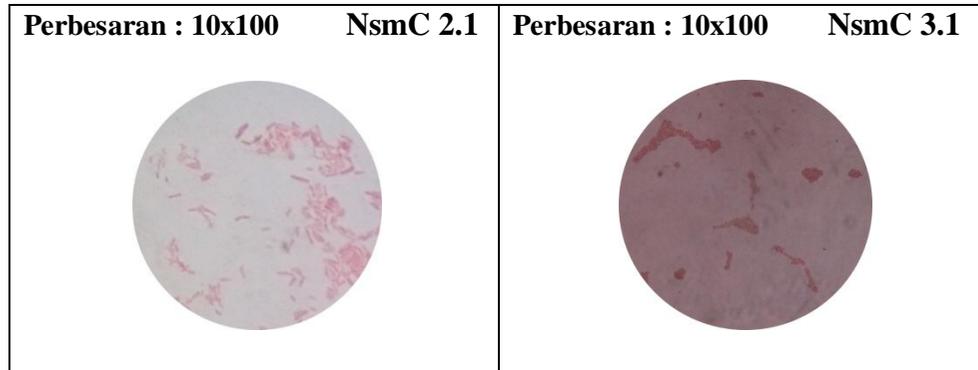


➤ *Nitrobacter* sp.

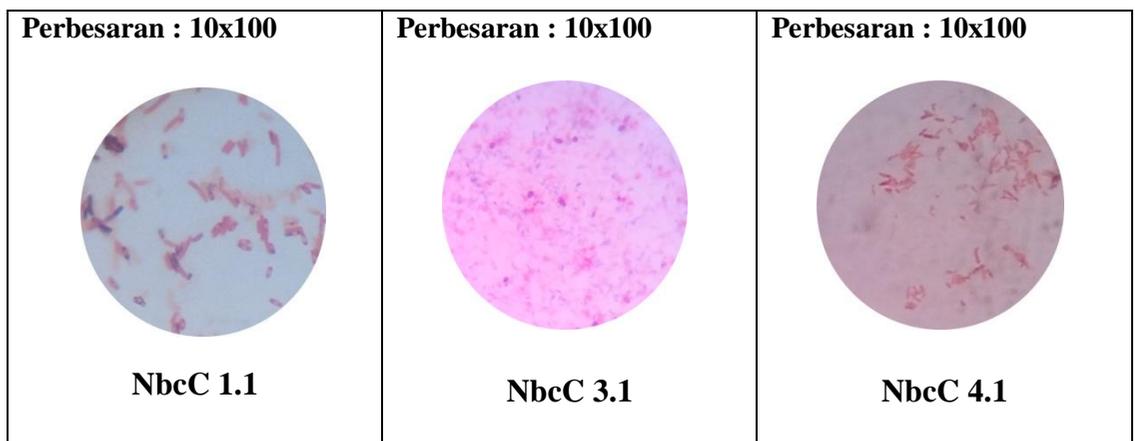


c. Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tanaman Bagian Tepi Sawah (C)

➤ *Nitrosomonas* sp.

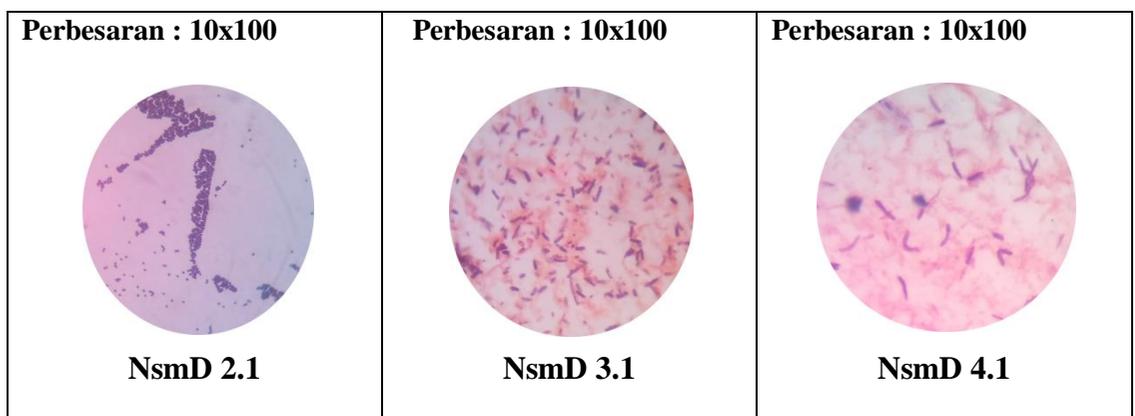


➤ *Nitrobacter* sp.

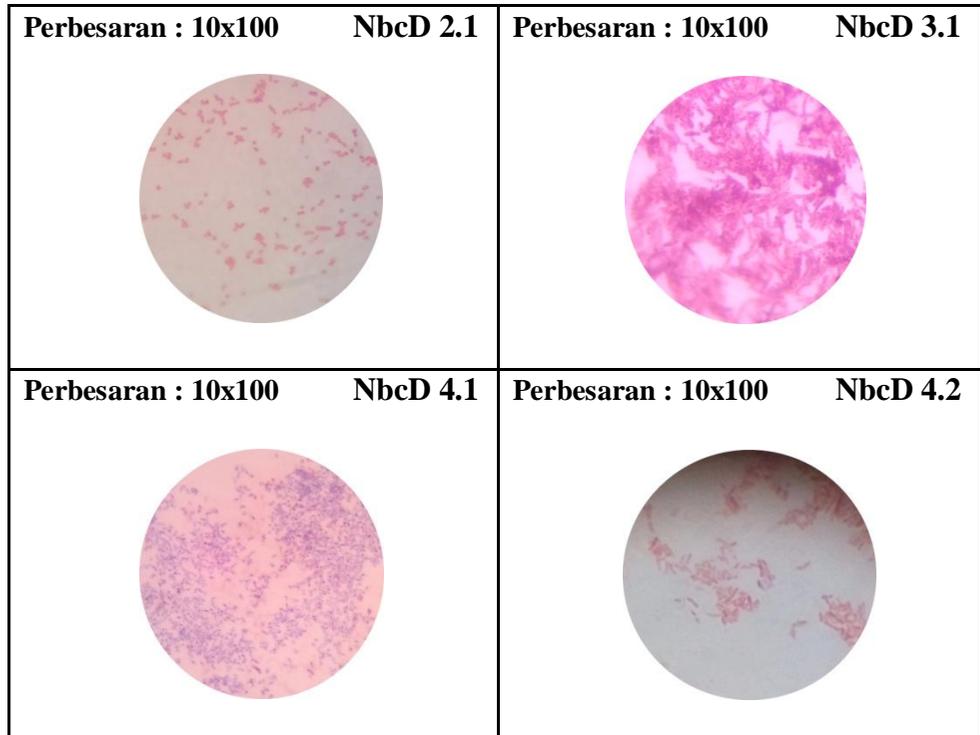


d. Sampel Tanah Sekitar Perakaran Tanaman Bagian Tengah Sawah (D)

➤ *Nitrosomonas* sp.



➤ *Nitrobacter* sp.



IV. FOTO-FOTO PENELITIAN



(a)



(b)



(c)



(d)

Keterangan :

- (a) = Lahan Persawahan Tanaman Padi Lokal Pulu Mandoti
- (b) = Proses Pengambilan Sampel
- (c) = Medium spesifik Nitrifikasi
- (d) = Proses Pengenceran Bertingkat