

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Padi (*Oryza sativa* L.) merupakan salah satu tanaman budidaya paling penting dalam sejarah pertanian dan menempati posisi ketiga dalam produksi sereal global, setelah jagung dan gandum (Ramayana, 2024). Meskipun demikian, padi menjadi sumber utama karbohidrat bagi sebagian besar penduduk dunia. Kebutuhan beras dan produk pertanian lainnya terus meningkat setiap tahunnya, namun hal ini dihadapkan pada berbagai tantangan dalam sektor pertanian global. Beberapa permasalahan yang kini dihadapi antara lain menyusutnya luas lahan pertanian akibat alih fungsi menjadi lahan non-pertanian yang dipicu oleh pertumbuhan jumlah penduduk, penurunan kualitas kesuburan tanah, serta meningkatnya serangan hama (Bantacut, 2012).

Indonesia tercatat sebagai negara ketiga penghasil beras terbanyak di dunia menurut data *Food and Agriculture Organization* (FAO). Lebih dari 40% masyarakat Indonesia menggantungkan hidup dari usahatani padi dan 60% lainnya menjadikan padi sebagai bahan pangan pokok. Adanya kondisi tersebut, diperkirakan usaha tani terus mengalami peningkatan setiap tahunnya. Berdasarkan data dari Badan Pusat Statistik (BPS), produksi padi di Provinsi Sulawesi Selatan menunjukkan tren yang tidak stabil. Pada tahun 2019, produksi padi mencapai 5.054.166,96 ton, kemudian menurun menjadi 4.708.464,97 ton pada tahun 2020, dan kembali meningkat pada tahun 2021 menjadi 5.152.871,43 ton (BPS, 2021).

Peningkatan produksi padi turut menyebabkan akumulasi limbah jerami dalam jumlah yang cukup besar. Setiap peningkatan produksi padi akan berdampak pada bertambahnya limbah jerami padi sekitar 10% (Rhofita, 2016). Sebanyak 60% petani di Indonesia, masih menerapkan praktik pembakaran jerami padi setelah panen. Kebiasaan ini umum dijumpai di wilayah pedesaan yang memiliki kepadatan penduduk tinggi. Setelah masa panen selesai, para petani kerap membakar jerami padi langsung di lahan sawah. Praktik tersebut dilakukan sebagai upaya untuk mengurangi volume limbah jerami, karena keterbatasan akses dan tingginya biaya dalam pengangkutan jerami ke tempat lain, serta dianggap mampu memperbaiki kesuburan tanah secara praktis (Putri, 2024).

Dalam tanah, unsur hara seperti nitrogen (N) dan fosfat (P) memegang peranan penting dalam menunjang pertumbuhan tanaman. Ketersediaan kedua unsur ini sangat menentukan produktivitas lahan, sehingga mikroorganisme seperti bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat memiliki peran strategis dalam meningkatkan ketersediaan hara bagi tanaman. Menurut Simanungkalit *et al.* (2006) dan Ginting *et al.* (2006), keberadaan bakteri pelarut fosfat (BPF) serta bakteri penambat nitrogen (BPN) dapat menyediakan unsur P dan N yang dibutuhkan tanaman secara hayati.

Pembakaran lahan sebaiknya dihindari karena dapat merusak keseimbangan hayati tanah dan mengganggu keberadaan mikroorganisme bermanfaat contohnya mikroba indigenous seperti *Azotobacter*, *Azospirillum*, serta mikroba pelarut fosfat seperti *Pseudomonas*, *Aspergillus*, dan mikoriza yang dapat menjadi solusi alami dalam penyediaan hara tanah. Selain ramah lingkungan, penggunaan bakteri tersebut juga dapat mengurangi biaya produksi pertanian hingga 40% serta meningkatkan hasil panen antara 15% hingga 70%, sekaligus menurunkan ketergantungan terhadap pupuk kimia

hingga 50% (Supriyo *et al*, 2014). Kehadiran bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat ini terbukti mampu meningkatkan tinggi tanaman, bobot kering, dan indeks hasil panen, menjadikannya sebagai kandidat potensial untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati. Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterikasi mikroba penambat nitrogen (N) dan pelarut fosfat (P) dari ekosistem tanah sawah di Kelurahan Pallantikang, Kecamatan Maros Baru, Kabupaten Maros. Penelitian ini penting dilakukan guna mengidentifikasi potensi mikroorganisme lokal (indigenous) yang berperan dalam penyediaan unsur hara secara hayati.

1.2 Tujuan Penelitian

Penelitian bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi mikroba penambat nitrogen (N) dan pelarut fosfat (P) dari tanah sawah yang mengalami pembakaran jerami dan berlokasi dekat dengan jalan, lahan yang mengalami pembakaran jerami namun berlokasi jauh dari jalan dan lahan tanpa pembakaran jerami di Kelurahan Pallantikang, Kecamatan Maros Baru, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan sebagai upaya pemanfaatan mikroba indigenous untuk meningkatkan kesuburan tanah secara berkelanjutan.

BAB II METODOLOGI

2.1 Tempat dan Waktu

Lokasi penelitian yaitu di lahan sawah, Kelurahan Pallatikang, Kecamatan Maros Baru, Kabupaten Maros, Sulawesi Selatan. Analisis sampel dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Tanah dan Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin. Penelitian ini berlangsung pada bulan Juni – September 2025.

2.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam isolasi bakteri di laboratorium yaitu erlenmeyer, cawan petri, gelas beaker, sendok spatula, timbangan elektrik, *hot plate stirrer*, *autoklaf*, *incubator*, tabung reaksi, batang spreader segitiga, bunsen, pemantik api, vortex, pipette tips 1000uL warna biru, *mikropipette eppendorf* 1000uL, *mikropipette eppendorf* 100uL, rak tabung reaksi, dan Laminar Air Flow.

Bahan yang digunakan dalam analisis bakteri di laboratorium adalah sampel tanah. Sedangkan bahan yang digunakan untuk menguji kemampuan bakteri dalam mengikat N₂ bebas udara adalah menggunakan medium Ashby mannitol agar (HIMEDIA) yang terdiri dari ; mannitol, 15 g; CaCl₂·2H₂O, 0.2 g; K₂HPO₄, 0.2 g; MgSO₄·7H₂O, 0.2 g; MoO₃ (10%), 0,1 mL; FeCl₃ (10%), 0.1 mL. Uji kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat menggunakan media agar Pikovskaya (HIMEDIA) terdiri atas: Ca₃(PO₄)₂ 5 g; (NH₄)₂SO₄ 0,5 g; NaCl 0,2 g; MgSO₄·7H₂O 0,1 g; KCl 0,2 g; Glucosa 10 g; MnSO₄ 0.002 g; FeSO₄·7H₂O 0.002 g; Agar 20 g; Aquadest 1000 mL, dengan pH 6,8. Bahan-bahan lainnya untuk analisis yaitu aluminium foil, plastik *cling wrap* transparan, alkohol 70%, spritus, dan label. Adapun bahan yang digunakan adalah sampel tanah terganggu pada setiap titik sampel, peta Lokasi di Kecamatan Pallatikang, Kabupaten Maros.

2.3 Metode Penelitian

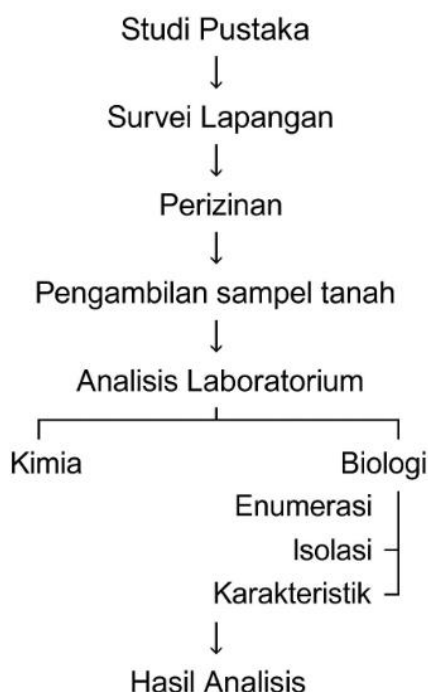
Penelitian ini menggunakan metode kuantitatif yaitu dengan dilakukan pengambilan sampel tanah kemudian analisis bakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Tanah dan Laboratorium Kimia dan Kesuburan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin. Parameter dan metode penelitian tersebut diuraikan pada Tabel 2.1 sebagai berikut:

Tabel 2. 1 Jenis dan metode analisis sampel tanah

Paremeter	Metode
Tekstur	Hidrometer
pH	pH meter
C-Organik (%)	Walkley & Black
KTK (cmol/kg tanah)	NH ₄ OAc pH 7.0
P total	HCl 25% (mg/100g ⁻¹)
N total (%)	Kjeldhal
Suhu tanah	Termometer

2.4 Tahapan Penelitian

Berikut tahapan penelitian tersebut diuraikan pada gambar 2.1 sebagai berikut:



Gambar 2. 1 Diagram Alur Penelitian

2.4.1 Persiapan dan perencanaan

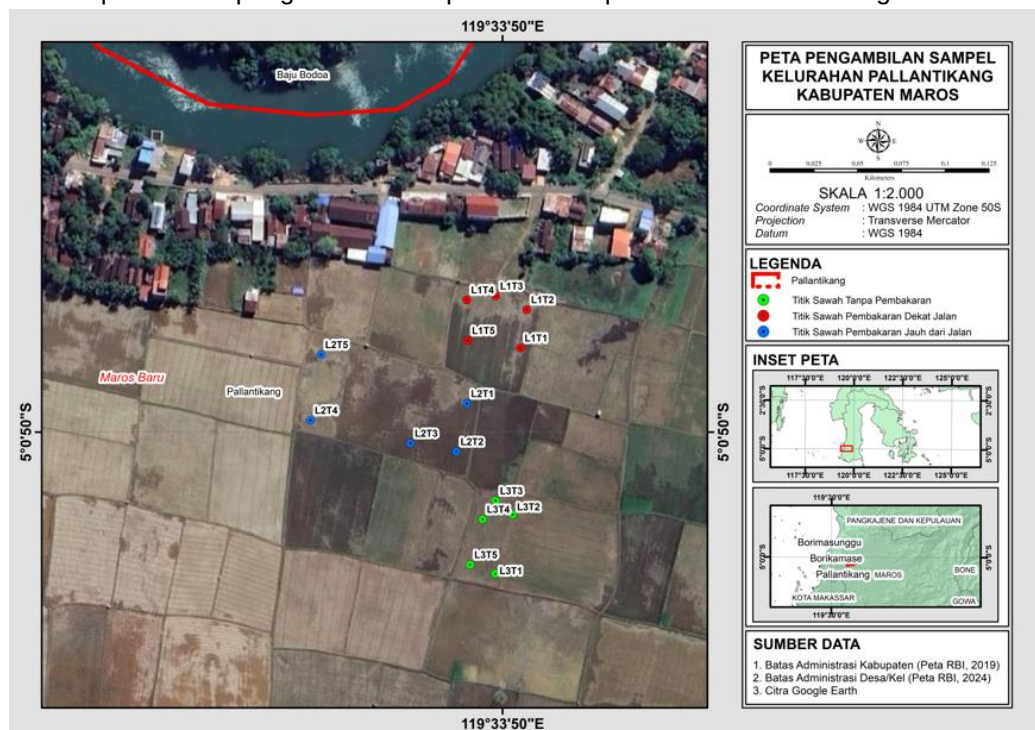
Tahap persiapan dan perencanaan yang dilakukan adalah menganalisis masalah kemudian menentukan topik dan lokasi penelitian yang akan dilakukan, serta mempersiapkan data dan peralatan yang akan di perlukan. Tahap ini merupakan salah satu awal yang penting dalam menunjang kelancaran penelitian.

2.4.2 Perizinan

Perizinan ini dilakukan untuk mencegah hal- hal yang merugikan bagi pihak- pihak terkait baik secara lisan dan melalui persuratan jika dibutuhkan, hal yang dilakukan sebelum pengambilan sampel dilapangan. Perizinan dilakukan kepada pemerintah dan petani setempat

2.4.3 Pembuatan Peta Kerja

Berikut peta lokasi pengambilan sampel diuraikan pada Gambar 2.2 sebagai berikut :



Gambar 2. 2 Lokasi Titik Pengambilan Sampel

2.4.4 Survei Lapangan

Survei lapang dilakukan sebelum pengambilan sampel tanah yang memuat pengamatan visual dengan tujuan untuk mendapatkan informasi pendukung dalam mengetahui kondisi wilayah.

2.4.5 Pengambilan sampel

Pengambilan sampel dilakukan pada tiga tipe lahan, yaitu: (1) lahan yang mengalami pembakaran jerami dan berlokasi dekat dengan jalan, (2) lahan yang mengalami pembakaran jerami namun berlokasi jauh dari jalan, dan (3) lahan tanpa pembakaran jerami. Dari masing-masing tipe lahan, dipilih satu petak sawah sebagai lokasi pengambilan sampel, dengan lima titik pengambilan pada setiap petak. Sampel tanah diambil pada kedalaman 0–20 cm di setiap titik, sehingga secara keseluruhan terdapat 15 titik sampel tanah.

2.4.6 Analisis Sampel di Laboratorium

2.4.6.1 Sterilisasi Bahan dan Alat

Isolasi bakteri dan jamur dilakukan dengan keadaan steril dalam *Laminar Air Flow* (LAF). LAF terlebih dahulu dibersihkan dengan alkohol 70% kemudian disterilisasi bersama dengan bahan dan alat lainnya menggunakan UV selama 20 menit.

2.4.6.2 Pembuatan Media Tumbuh

2.4.6.2.1 Media Tumbuh Mikroba Pengikat Nitrogen

Pembuatan media tumbuh untuk pengujian kemampuan bakteri mengikat nitrogen bebas dilakukan menggunakan media *Ashby Mannitol Agar* (HIMEDIA). Sebanyak 40,7 gram bubuk media dilarutkan ke dalam 1000 ml aquadest. Larutan dipanaskan secara perlahan hingga mendidih sambil terus diaduk agar tercampur merata. Setelah media larut sempurna, dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Usai proses sterilisasi, medium didinginkan hingga mencapai suhu 45–50°C, diaduk hingga homogen, lalu dituangkan ke dalam cawan Petri yang steril.

2.4.6.2.2 Media Tumbuh Mikroba Pelarut Fosfat

Pembuatan media tumbuh untuk menguji kemampuan bakteri pelarut fosfat dilakukan menggunakan media *Pikovskaya Agar* (HIMEDIA). Sebanyak 31,3 gram media dilarutkan ke dalam 1000 ml Aquadest. Larutan tersebut kemudian dipanaskan hingga mendidih untuk memastikan media larut secara menyeluruh. Setelah itu, media disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15 menit. Usai sterilisasi, media didinginkan hingga suhu 45–50°C, kemudian diaduk hingga homogen dan dituangkan ke dalam cawan Petri steril.

2.4.6.3 Enumerasi Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) dan Bakteri Penambat Nitrogen (BPN)

Tahap awal dilakukan isolasi dilakukan dengan metode pengenceran bertingkat. Sebanyak 10 gram tanah dimasukkan kedalam Erlenmeyer yang berisi 90ml NaCl fisiologis kemudian dihomogenkan, sebanyak 1 ml sampel dari masing-masing media cair diambil dan dimasukkan ke dalam 9 ml larutan fisiologis NaCl dalam tabung reaksi kecil, kemudian dikocok hingga merata. Pengenceran dilakukan secara bertahap hingga mencapai pengenceran 10^{-6} . Selanjutnya, sebanyak 1 ml dari hasil pengenceran tersebut dituangkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Pikovskaya Agar* dan *Mannitol Ashby Agar*. Sampel kemudian diratakan menggunakan batang penyebar steril, lalu diinkubasi pada suhu sekitar 27–28°C. Pertumbuhan koloni diamati setiap hari, dan jumlah koloni dihitung menggunakan metode cawan hitung (*plate count*). Koloni yang tumbuh dari hasil isolasi tahap awal pada media *Pikovskaya* maupun media *Ashby* kemudian diinokulasikan kembali ke media yang sama menggunakan metode gores untuk mendapatkan isolat murni.

2.4.6.4 Pemurnian dan Karakteristik Mikroba

Bakteri hasil inkubasi diamati secara langsung (Makroskopis) yaitu : pada bentuk koloni, permukaan koloni, elevasi, tepi, ukuran, dan warna koloni berdasarkan buku identifikasi morfologi bakteri (Hadioetomo, 1993). Parameter pengamatan morfologi koloni mikroskopis tersebut diuraikan pada tabel 2.2 sebagai berikut:

Tabel 2. 2 Parameter Pengamatan Morfologi Koloni Makroskopis

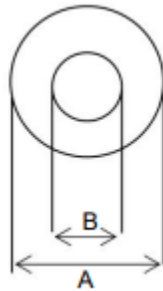
Variabel	Kriteria
Bentuk koloni dari Atas	Bulat (<i>Circular</i>), Titik/Bintik (<i>Punctiform</i>), Berfilamen (<i>Filamentous</i>), Tidak teratur (<i>Irregular</i>), Berakar/Rizoid (<i>Rhizoid</i>)
Tepi koloni	Rata (<i>Even</i>), Bergelombang (<i>Wavy</i>), Berfilamen (<i>Filamentous</i>), Berlekuk/Berlobus (<i>Lobate</i>), Menggulung (<i>Curled</i>)
Elevasi	Datar (<i>Flat</i>), Menonjol di tengah (<i>Umbonate</i>), Sedikit Terangkat (<i>Raised</i>), Cembung (<i>Convex</i>), Seperti Bantal/Kubah (<i>Pulvinate</i>)
Kegelapan	Transparan (<i>Transparent</i>), Translusen (<i>Translucent</i>), Buram/Tidak Tembus Cahaya (<i>Opaque</i>)
Permukaan koloni	Halus (<i>Smooth</i>), Berkilauan (<i>Glistening</i>), Kasar (<i>Rough</i>), Keriput (<i>Wrinkle</i>), Kusam (<i>Dull</i>)
Warna koloni	Berwarna (<i>White, Creamy-White, Yellow, Orange, Green</i>), tidak berwarna
Ukuran	Kecil (<i>Small</i>) (<1mm), Sedang (<i>Medium</i>) (1-2mm), Besar (<i>Large</i>) (2mm>)

2.4.6.5 Metode Gram dengan Pengujian KOH 3%

Metode gram dengan pengujian KOH 3% merupakan metode identifikasi bakteri yang baik dalam menentukan jenis dominan bakteri yang aktif yang ditandai dengan adanya lendir. Penentuan sifat gram dengan KOH 3% memiliki hasil yang sama dengan pengujian pewarnaan gram. Pengujian KOH 3% pada bakteri mengindikasikan bakteri gram (+) memiliki dinding sel yang tebal dan lemak yang tipis sedangkan gram (-) berlemak tebal dan berdinding sel tipis yang berada di ruang periplasma. KOH akan menyerang lemak (bilayer lipid) dan membuat sel gram (-) pecah. Sel yang pecah akan melepaskan materi genetik (DNA) yang merupakan substansi melimpah di dalam sel bakteri. Molekul DNA sangat panjang bersifat sticky strings (menyerupai lendir, getah atau dapat berarti lengket) yang memberikan hasil seperti lendir saat diangkat dengan jarum inokulum (Edwin, 2011).

2.4.6.6 Metode Perhitungan Indeks (*Solubilization Index*)

Perhitungan Indeks Solubilisasi (SI) dilakukan berdasarkan metode Premono *et al.* (1996) dengan membandingkan rasio antara diameter total zona bening terhadap diameter koloni bakteri. Pengukuran parameter dilakukan menggunakan penggaris yang meliputi diameter total (A), yaitu gabungan antara diameter koloni dan zona halo (zona bening), serta diameter koloni (B) secara mandiri. Nilai Indeks Solubilisasi selanjutnya dihitung menggunakan rumus sebagai berikut :



Indeks Solubilisasi Fosfat = A/B

A = diameter total (koloni + zona halo)

B = diameter koloni

Gambar 2. 3 Indeks Solubilisasi

