

ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN NON-SIMBIOTIK TANAH GAMBUT CAGAR BIOSFER GIAM SIAK KECIL-BUKIT BATU

RAHEL KABURUAN¹, HAPSOH², GUSMAWARTATI²

¹Mahasiswi Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

²Dosen Jurusan Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Riau

e-mail : rachel.kaburuan@gmail.com; Tel. : 0813-6388-8992

ABSTRACT

Giam Siak Kecil Biosphere-Bukit Batu (GSK-BB) is Riau peatlands area which is largest composed by lowland peat swamp forest ecosystem. Seeing peatland ecosystem getting extreme, there will be small possibility that soil microbes are able to breed optimally, but microbes in tropical land has not been explored. However, the high content of organic matter, allowing soil microbial activity in the organic matter recycle that essential to life such as nitrogen cycle. Non-symbiotic nitrogen fixing bacteria is a free-living bacteria and plays a role in the supply of N in the soil. The results of the isolated and characterization of single bacterial isolates obtained 31 non-symbiotic N fixing of GSK-BB peat Biosphere which allegedly largest to genus Azotobacter, Azospirillum and Clostridium pasteurianum as well as the results of clear zone isolates on the medium modification, from the single isolates contained 14 isolate that potentially in a non-symbiotic N with the largest ratio of clear zone obtained HTA1 10⁻⁴ NS-2, HTA1 10⁻⁴ NS-1, HTA 4 10⁻⁴ NA-1 dan HTA5 10⁻⁴ NS-2.

Keywords: GSK-BB Biosphere Reserve, peat, Non-symbiotic nitrogen fixing bacteria

PENDAHULUAN

Total luas gambut di Indonesia yaitu 14.905.574 ha yang tersebar di tiga pulau utama Indonesia yaitu Sumatera, Kalimantan dan Papua. Lahan gambut terluas terdapat di pulau Sumatera yaitu 6.436.649 ha dan khusus di Provinsi Riau luas lahan gambut yaitu 3.867.413 ha (BB Litbang SDLP, 2011). Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu (GSK-BB) merupakan kawasan gambut di Riau sebagian besar terdiri dari ekosistem hutan rawa gambut dataran rendah. Menurut Mursyida (2012) ekosistem ini sangat unik karena keseimbangannya dipengaruhi oleh tiga komponen utama yaitu gambut, air dan vegetasi.

Gambut Indonesia memiliki pH yang rendah, ketersediaan unsur makro dan sejumlah unsur mikro yang umumnya juga rendah. Melihat ekosistem lahan gambut yang ekstrim, kecil kemungkinan adanya mikrob tanah yang mampu berkembang biak secara optimal, akan tetapi mikrob di lahan gambut tropis belum banyak dieksplorasi. Namun, Wibowo *et al.* (2008) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi *Azotobacter*, *Bacillus* dan *Pseudomonas* dari gambut permukaan di kecamatan Samarinda Utara provinsi Kalimantan Timur. Ditemukannya bakteri di lahan gambut menunjukkan bakteri mampu hidup dalam berbagai kondisi lingkungan tanah.

Kandungan bahan organik lahan gambut yang tinggi, memungkinkan adanya aktivitas mikrob

tanah dalam daur unsur organik yang penting untuk kehidupan seperti daur nitrogen. Bakteri penambat nitrogen (N) non simbiotik termasuk kelompok rhizobakteria yang berperan dalam penyediaan unsur N bagi tanaman.

Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan isolat bakteri penambat N non-simbiotik pada lahan gambut dan mengetahui potensinya. Penelitian ini dirancang sebagai penelitian eksploratif yang dianalisis secara deskriptif. Sampel tanah diambil dari lima rhizozfer di GSK-BB dengan kedalaman 0-40 cm. Bakteri penambat N non-simbiotik diisolasi dengan menggunakan media spesifik YEMA dengan metode *pour plate* yang diinkubasi pada suhu ruang selama tiga hari dengan posisi terbalik.

Keberadaan bakteri penambat N non-simbiotik ditandai dengan adanya zona bening disekitar tempat tumbuh koloni dan kemudian dilakukan pemurnian pada media yang sama (YEMA). Kemudian dilakukan identifikasi makroskopis, mikroskopis dan uji potensi pada isolat murni tersebut.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Sampel tanah gambut hutan Cagar Biosfer GSK-BB, NaCl 0,85% steril, alkohol 96%, alkohol 70%, reagen pewarnaan gram (kristal violet, iodine, safranin). Media yang digunakan adalah media Yeast Ekstrak Manitol Agar (YEMA) selektif untuk menambat bakteri N non-simbiotik (Becking, 1959 *dalam* Rao,

2007) yang terdiri atas 20 g sukrosa; 5 g K_2HPO_4 ; 2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 1 g $CaSO_4$; 0,2 g $FeSO_4$; 0,1 g $MoO_3 \cdot H_2O$; 0,1 g Ki; 3 g $CaCO_3$; 0,5 g *yeast extract* dan 17 g dengan pH 5.

Cara Kerja

Pengambilan sampel tanah dilakukan pada 5 rhizosfer di hutan GSK-BB secara random, gambut diambil dengan kedalaman 0-40 cm menggunakan bor. Saat yang bersamaan juga dilakukan pengukuran pH, temperatur dan kelembaban tanah.

Isolasi dan purifikasi

Isolasi di awali dengan pengenceran tanah. Pengenceran dilakukan dengan mengambil sampel tanah masing-masing sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi pertama, homogenkan dengan vortex selama 2 menit dan beri label pada tabung reaksi pengenceran 10^{-1} . Setelah digocok menggunakan vortex, pindahkan 1 ml larutan tanah ke tabung reaksi selanjutnya yang berisi 9 ml larutan NaCl steril menggunakan pipet volum 1 ml. Homogenkan kembali dengan menggunakan vortex dan beri label pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilakukan sampai 10^{-7} . Pengenceran dengan serial 10^{-4} – 10^{-7} masing-masing diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan pipet volum 1 ml untuk ditumbuhkan secara *pour plate*. Larutan 1 ml yang telah dipipet, dimasukkan ke dalam cawan petri, lalu tuang media YEMA. Goyangkan petri secara perlahan searah jarum jam sehingga menutupi semua permukaan cawan petri. Biarkan cawan petri di sekitar bunsen sehingga membeku. Inkubasi pada suhu ruang selama tiga hari dengan posisi terbalik.

Koloni bakteri pada medium YEMA yang mempunyai zona bening disekelilingnya dianggap bakteri yang mampu menambat nitrogen. Koloni bakteri kemudian dimurnikan pada media yang sama dengan metode *streak plate* dan diinkubasi selama tiga hari pada suhu ruang. Kegiatan ini diulang sampai didapatkan koloni yang terpisah dan menampakkan morfologi koloni yang seragam baik warna, ukuran maupun bentuknya (Hadioetomo, 1993).

Karakteristik morfologi dan fisiologi

Karakterisasi secara morfologi dan fisiologi dilakukan melalui pengamatan makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis koloni meliputi warna, tepi, bentuk, konsistensi dan elevasi. Karakterisasi fisiologi meliputi pewarnaan gram, bentuk sel dan motilitas.

Uji kemampuan menambat nitrogen

Pengujian kemampuan penambatan nitrogen oleh isolat dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada media YEMA yang

dimodifikasi dengan penambahan pewarna sebagai indikator yaitu *Congo Red* (Somasegaran dan Hoben, 1985), kemudian diamati pertumbuhan isolat dan perubahan warna media. Zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong, kemudian dibagi dengan diameter koloni bakteri yang tumbuh (Widiawati *et al.* 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

N Hasil isolasi dan seleksi bakteri yang dimurnikan dengan menggunakan metode *streak plate* pada media YEMA diperoleh 31 isolat tunggal bakteri penambat N non-simbiotik (Tabel 1)

Tabel 1. Hasil Isolasi dan Pemurnian Isolat Bakteri Penambat N Non-Simbiotik dari Tanah Gambut GSK-BB

Kode Titik Sampel	Jumlah Bakteri yang Diperoleh
HTA 1	6
HTA 2	7
HTA 3	7
HTA 4	5
HTA 5	6
Total	31

Berdasarkan pengamatan morfologi koloni dan fisiologi bakteri penambat N non-simbiotik dari seluruh sampel tanah, terlihat perbedaan karakter antara satu dengan yang lainnya (Tabel 2). 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.

Tabel 2. Hasil Pengamatan Isolat Bakteri Penambat Nitrogen Non-Simbiotik Terseleksi

No	Kode Isolat	Karakterisasi Koloni				Karakterisasi Sel				Pewarnaan gram
		Bentuk Koloni	Warna Koloni	Tepian Koloni	Elevasi	Konsistensi	Bentuk Sel	Motilitas		
1	HTA1 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat	Putih	Licin	Seperti tombol	Menempel	Basil	Motil	-	
2	HTA1 10 ⁻⁴ NS-2	Bulat dengan tepian kerang	Putih	Berombak	Timbul	Menempel	Basil	Motil	-	
3	HTA1 10 ⁻⁴ NS-3	Konsentris	Putih	Siliat	Seperti Tombol	Menempel	Basil	Motil	+	
4	HTA1 10 ⁻⁵ NS-1	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Datar	Menempel	Kokus	Non motil	+	
5	HTA1 10 ⁻⁵ NS-4	Bulat	Putih	Licin	Datar	Menempel	Kokus	Non Motil	-	
6	HTA1 10 ⁻⁶ NS-2	Bulat	Putih	Berlekuk	Datar	Menempel	Spiral	Motil	-	
7	HTA2 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Seperti tombol	Menempel	Basil	Non Motil	-	
8	HTA2 10 ⁻⁴ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Datar	Menempel	Basil	Motil	+	
9	HTA2 10 ⁻⁵ NS-1	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Menempel	Basil	Non Motil	+	
10	HTA2 10 ⁻⁵ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Menempel	Kokus	Non Motil	+	
11	HTA2 10 ⁻⁶ NS-1	Berkonsentris	Putih	Berombak	Timbul	Menempel	Basil	Non Motil	+	
12	HTA2 10 ⁻⁶ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Menempel	Basil	Motil	+	
13	HTA2 10 ⁻⁶ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Menempel	Basil	Motil	+	
14	HTA3 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat	Krem	Licin	Cembung	Menempel	Basil	Non Motil	-	
15	HTA3 10 ⁻⁴ NS-5	Keriput	Putih	Siliat	Datar	Menempel	Basil	Motil	+	
16	HTA3 10 ⁻⁴ NS-7	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Berombak	Seperti tombol	Menempel	Spiral	Non Motil	-	
17	HTA3 10 ⁻⁵ NS-2	Tak beraturan dan menyebar	Putih tembus cahaya	Berlekuk	Datar	Menempel	Spiral	Non Motil	+	
18	HTA3 10 ⁻⁵ NS-4	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Menempel	Spiral	Non Motil	+	
19	HTA3 10 ⁻⁶ NS-3	Keriput	Putih tembus cahaya	Licin	Seperti tombol	Menempel	Basil	Non Motil	+	
20	HTA3 10 ⁻⁶ NS-5	Keriput	Putih	Licin	Seperti tombol	Menempel	Basil	Non Motil	-	
21	HTA4 10 ⁻⁴ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Timbul	Menempel	Basil	Motil	-	
22	HTA4 10 ⁻⁴ NS-2	Konsentris	Putih	Berombak	Cembung	Menempel	Basil	Motil	+	
23	HTA4 10 ⁻⁵ NS-3	Tak beraturan dan menyebar	Putih	Berlekuk	Berbukit-bukit	Menempel	Basil	Motil	+	
24	HTA4 10 ⁻⁶ NS-1	Bulat dengan tepian timbul	Putih	Licin	Datar	Menempel	Basil	Motil	+	
25	HTA4 10 ⁻⁶ NS-3	Bulat	Putih tembus cahaya	Licin	Cembung	Menempel	Basil	Non Motil	-	
26	HTA5 10 ⁻⁴ NS-1	Konsentris	Putih	Siliat	Seperti tombol	Menempel	Spiral	Motil	-	
27	HTA5 10 ⁻⁴ NS-2	Bulat	Putih	Seperti wol	Cembung	Menempel	Basil	Non Motil	+	
28	HTA5 10 ⁻⁵ NS-1	Konsentris	Putih	Tak beraturan	Datar	Menempel	Spiral	Motil	-	
29	HTA5 10 ⁻⁵ NS-3	Bulat	Putih	Licin	Cembung	Menempel	Basil	Non Motil	-	
30	HTA5 10 ⁻⁶ NS-1	Bulat dengan tepian menyebar	Putih	Tak beraturan	Seperti tombol	Menempel	Basil	Motil	-	
31	HTA5 10 ⁻⁶ NS-4	Tak beraturan dan menyebar	Putih tembus cahaya	Berlekuk	Seperti tombol	Menempel	Basil	Motil	+	

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, terdapat 14 isolat yang mampu menghasilkan zona bening (halo) disekeliling bakteri (Tabel 3).

Tabel 3. Hasil Pengamatan Zona Bening Bakteri Penambat N Non-Simbiotik Terseleksi

No	Kode Isolat	Ukuran Koloni	Diameter Zona Bening	Rasio Zona Bening
1	HTA1 10 ⁻⁴ NS-1	1 mm	5 mm	5 mm
2	HTA1 10 ⁻⁴ NS-2	0,5 mm	3 mm	6 mm
3	HTA1 10 ⁻⁴ NS-3	2 mm	5 mm	3 mm
4	HTA1 10 ⁻⁵ NS-1	1 mm	-	-
5	HTA1 10 ⁻⁵ NS-4	1 mm	3 mm	3 mm
6	HTA1 10 ⁻⁶ NS-2	2 mm	1 mm	1 mm
7	HTA2 10 ⁻⁴ NS-1	1 mm	2 mm	2 mm
8	HTA2 10 ⁻⁴ NS-4	0,5 mm	2 mm	4 mm
9	HTA2 10 ⁻⁵ NS-1	2 mm	1 mm	1 mm
10	HTA2 10 ⁻⁵ NS-2	1 mm	1 mm	1 mm
11	HTA2 10 ⁻⁶ NS-1	1 mm	-	-
12	HTA2 10 ⁻⁶ NS-2	2 mm	-	-
13	HTA2 10 ⁻⁶ NS-4	1 mm	-	-
14	HTA3 10 ⁻⁴ NS-1	1 mm	-	-
15	HTA3 10 ⁻⁴ NS-5	1 mm	-	-
16	HTA3 10 ⁻⁴ NS-7	4 mm	-	-
17	HTA3 10 ⁻⁵ NS-2	3 mm	-	-
18	HTA3 10 ⁻⁵ NS-4	2 mm	-	-
19	HTA3 10 ⁻⁶ NS-3	2 mm	-	-
20	HTA3 10 ⁻⁶ NS-5	2 mm	-	-
21	HTA4 10 ⁻⁴ NS-1	2 mm	6 mm	3 mm
22	HTA4 10 ⁻⁴ NS-2	1 mm	5 mm	5 mm
23	HTA4 10 ⁻⁵ NS-3	3 mm	-	-
24	HTA4 10 ⁻⁶ NS-1	2 mm	-	-
25	HTA4 10 ⁻⁶ NS-3	0,5 mm	-	-
26	HTA5 10 ⁻⁴ NS-1	2 mm	6,5 mm	3 mm
27	HTA5 10 ⁻⁴ NS-2	1 mm	5 mm	5 mm
28	HTA5 10 ⁻⁵ NS-1	2 mm	-	-
29	HTA5 10 ⁻⁵ NS-3	1 mm	-	-
30	HTA5 10 ⁻⁶ NS-1	2 mm	1 mm	1 mm
31	HTA5 10 ⁻⁶ NS-4	0,5 mm	-	-

Berdasarkan hasil pengamatan yang telah dilakukan, secara umum bakteri penambat N non-simbiotik yang terseleksi diduga sebagian besar merupakan genus *Azotobacte*, *Azospirillum* dan *Clostridium pasteurianum*.

Isolat dengan kode HTA1 10⁻⁴ NS-1, HTA1 10⁻⁴ NS-2, HTA1 10⁻⁵ NS-4, HTA2 10⁻⁴ NS-1, HTA2 10⁻⁵ NS-2, HTA3 10⁻⁴ NS-1, HTA3 10⁻⁶ NS-5, HTA4 10⁻⁴ NS-1, HTA4 10⁻⁶ NS-3 dan HTA5 10⁻⁵ NS-3 memiliki kesamaan karakter makroskopis dan mikroskopis dengan genus *Azotobacter*. Bakteri *Azotobacter*, banyak ditemukan pada tanah netral atau asam (Rao, 2007). Menurut Holt *et al.* (1994) dan Cowan *et al.* (1993) genus *Azotobacter* termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang, bersifat motil dan non motil, koloni *Azotobacter* pada media padat terlihat berwarna putih. Sifat hidupnya aerob tetapi juga dapat tumbuh secara anaerob fakultatif jika kelarutan oksigen menurun. Bentuk sel

Azotobacter bermacam-macam, sehingga bakteri ini dikenal dengan bentuk sel pleomorfik. Kerapatan bakteri ini di dalam tanah berkisar 10³-10⁶ sel per gram tanah. Penelitian Wedastri (2012) menunjukkan *Azotobacter* dapat bersifat gram variabel, dimana isolat penelitian yang awalnya bersifat gram negatif setelah berumur dua minggu atau lebih berubah menjadi gam positif.

Kode isolat HTA1 10⁻⁶ NS-2, HTA2 10⁻⁶ NS-1, HTA2 10⁻⁶ NS-2, HTA2 10⁻⁶ NS-1, HTA3 10⁻⁴ NS-7, HTA4 10⁻⁴ NS-2, HTA5 10⁻⁴ NS-1, HTA5 10⁻⁵ NS-1, HTA5 10⁻⁶ NS-1 karakteristiknya mendekati genus *Azospirillum*. Pertumbuhan genus *Azospirillum* pada media dicirikan dengan pembentukan *pellicle* berwarna putih di permukaan media dengan diameter 2-4 mm. Koloni berbentuk irregular berwarna putih dan berukuran besar (Hamdi,1982). *Azospirillum* banyak ditemukan di daerah tropis dengan pH 5,6. spesies ini tumbuh dengan baik pada daerah perakaran rumput-rumputan.

HTA1 10⁻⁴ NS-3, HTA1 10⁻⁵ NS-1, HTA2 10⁻⁴ NS-4, HTA2 10⁻⁵ NS-1, HTA3 10⁻⁴ NS-5, HTA3 10⁻⁵ NS-2, HTA3 10⁻⁵ NS-4, HTA3 10⁻⁶ NS-3, HTA4 10⁻⁵ NS-3, HTA4 10⁻⁶ NS-1, HTA5 10⁻⁴ NS-2, HTA5 10⁻⁶ NS-4 diduga merupakan *Clostridium pasteurianum*. Bakteri ini merupakan bakteri anaerob yang berbentuk batang, bersifat motil dan termasuk bakteri gram positif, pada media padat *Clostridium pasteurianum* berbentuk bulat hingga tidak teratur, tepi koloni konveks hingga datar dan tembus cahaya. *Clostridium pasteurianum* dikenal paling toleran terhadap tanah masam dibandingkan dengan bakteri penambat N non-simbiotik lainnya. Bakteri ini tersebar luas di tanah, sebab tidak menuntut kondisi tanah dengan aerasi berlebih maupun melimpahnya bahan organik tanah. Pengelolaan tanah yang sederhana saja sudah cukup untuk mendukung fungsi bakteri ini dalam mengikat nitrogen bebas (Foth, 1998).

Pengamatan zona bening berdasarkan Tabel 2. Terlihat bahwa rasio zona bening terbesar dimiliki oleh HTA1 10⁻⁴ NS-2 yaitu sebesar 6 mm. Menurut Nurmalinda *et al.* (2013) kemampuan suatu mikroba dalam mengubah substrat dapat dilihat dari daerah halo yang terbentuk pada suatu medium tumbuh. Semakin besar daerah halo yang terbentuk menandakan bahwa mikroba tersebut memiliki kemampuan yang tinggi dalam mengubah substrat yang terkandung di dalam medium. Gula yang dimanfaatkan oleh bakteri akan disederhanakan menjadi asam-asam organik yang kemudian bereaksi dengan CaCO₃ pada medium sehingga terbentuk zona bening di sekitar koloni bakteri.

Ukuran diameter koloni pada penelitian ini berkisar 0,5-4mm dan ukuran diameter terbesar terlihat pada kode isolat HTA3 10⁻⁴ NS-7 dengan ukuran 4 mm. Menurut Agustian *et al.* (2012) perbedaan ini dapat disebabkan oleh lamanya inkubasi.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan hasil penelitian isolasi dan identifikasi bakteri penambat N non-simbiotik Cagar Biosfer GSK-BB bahwa diperoleh 31 isolat bakteri penambat N non-simbiotik dan teridentifikasi merupakan genus *Azotobacter*, *Azospirillum* dan *Clostridium pasteurianum*. Terdapat 14 isolat yang berpotensi dalam menambat N non-simbiotik yang di tandai dengan kemampuan isolat dalam menghasilkan rasio zona bening. Rasio zona beningterbesar diperoleh pada isolat HTA1 10⁻⁴ NS-2, HTA1 10⁻⁴ NS-1, HTA 4 10⁻⁴ NA-1 dan HTA5 10⁻⁴ NS-2.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustian, R. Syafei, & L. Maira. 2012. Keragaman bakteri penambat N pada rhizosfir titonia (*Tithonia diversifolia*) yang tumbuh pada tanah masam ultisol. *J. Solum Vol IX*. 98-105.
- BB Litbang SDLP. 2011. *Peta Lahan Gambut Indonesia*. Edisi Desember 2011. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya Lahan Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Kementrian Pertanian. Jakarta.
- Cowan, S.T., Steel, K.J., Barrow, G.I., Feltham, R.K.A. 1993. *Cowan and Steel's Manual for The Identification of Medical Bacteria 3rd Edition*. Cambridge University Press, Australia.
- Foth, H. D. 1998. *Dasar-Dasar Ilmu Tanah*. Terjemahan oleh : Sri Andani B. Hudoyo (ED). 2000. Jakarta. Gadjah Mada Universi ti Press. Jakarta UI-PRESS.
- Hadioetomo, R. S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Gramedia. Jakarta.
- Hamdi, Y.A. 1982. *Application Of Nitrogen-Fixing Systems in Soil Improvement and Management*. Rome. Food And Agriculture Organization Of The United Nation.
- Mursyida, Eliya. 2012. *Keanekaragaman bakteri dari tanah gambut di Cagar Biosfer Giam Siak Kecil Bukit-Batu*. [Skripsi]. Pekanbaru : Universitas Riau
- Nurmalinda A., Periadnadi, dan Nurmiati. 2013. Isolasi dan karakterisasi parsial bakteri indigenous pemfermentasi dari buah durian (*Durio zibethinus Murr.*). *J. Biologi Universitas Andalas*. 2(1) – Maret 2013 : 8-13.
- Rao, N.S. Subba. 2007. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Terjemahan Soil Organisms and Growth, oleh : Herawati Susilo. Jakarta. UI-PRESS.
- Somasegaran, P and H.J. Hoben. 1985. *Methods in legume Rhizobium Technology*. University of Hawaii. NIFTAL. Project and Mircen. 387.
- Wedastri, S. 2002. Isolasi dan seleksi *Azotobacter spp.* Pengahsil faktor tumbuh dan penambat nitrogen dari tanah masam. *J. Ilmu Tanah dan lingkungan 3* : 45-51.
- Widiawati, S., Suliasih dan A. Muharam. 2010. Pengaruh kompos yang diperkaya bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat terhadap pertumbuhan tanaman kapri dan aktivitas enzim fosfatase dalam tanah. *J. Hortikultura*. 20 (3) : 207-215.
- Wibowo A. M., A.Supriyanto, dan S.Hariyanto. 2008. Ekplorasi bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat pada tanah gambut di provinsi Kalimantan Timur. *J. Penelitian Mikrobiologi*. Universitas Airlangga. Hal : 5-8.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih kepada Direktur Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Direktorat Jendral Pendidikan Perguruan Tinggi Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan RI yang telah menyediakan dana penelitian ini melalui sebuah penelitian Hibah Kompetensi TA 2012/2013.

JURNAL AGROTEKNOLOGI

Journal of Agrotechnology

ISOLASI DAN ENUMERASI BAKTERI TANAH GAMBUT DI PERKEBUNAN KELAPA SAWIT PT. TAMBANG HIJAU KECAMATAN TAMBANG KABUPATEN KAMPAR Mokhamad Irfan	1-8
PENGARUH PEMBERIAN MYOINOSITOL DAN ARANG AKTIF PADA MEDIA SUB KULTUR JARINGAN TANAMAN ANGGREK (<i>Dendrobium</i> SP) Pebra Heriansyah, Trinop Sagiarti, Rover	9-16
RESPON TANAMAN SAWI (<i>Brassica juncea</i> L.) TERHADAP PEMBERIAN BEBERAPA DOSIS BOKASHI SAMPAH PASAR DENGAN DUA KALI PENANAMAN SECARA VERTIKULTUR (<i>Response of Mustard (Brassica juncea L.) with application of several doses of market waste bokashi in twice planting on verticulture system</i>) Aulia Rani Annisava, Lesti Anjela, Bakhendri Solfan	17-24
PEMBERIAN MIKROORGANISME SELULOLITIK (MOS) PADA APLIKASI TANDAN KOSONG KELAPA SAWIT TERHADAP PERTUMBUHAN KELAPA SAWIT (<i>Elaeis guineensis</i> Jacq.) DI TBM-II (<i>Giving of cellulolytic microorganisms application oil palm empty fruit bunch to the growth of oil palm (Elaeis guineensis Jacq.) in TBM-II</i>) Toni Kasmir Lumbantoruan, Gusmawartati, Sampoerno	25-28
PERTUMBUHAN DAN HASIL KEDELAI (<i>Glycine max</i> (L.) Merrill) DENGAN PEMBERIAN RHIZOBIUM DAN PUPUK UREA PADA MEDIA GAMBUT (<i>Growth and yield of soybean (Glycine max (L.) Merrill) with application of rhizobium and nitrogen fertilizer on peat media</i>) Indah Permanasari, Mokhamad Irfan, Abizar	29-34
ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN NON-SIMBIOTIK TANAH GAMBUT CAGAR BIOSFER GIAM SIAK KECIL-BUKIT BATU Rahel Kaburuan, Hapsoh, Gusmawartati	35-39