

Penjaringan *Azotobacter* Sp Dan *Azospirillum* Sp Dari Ekosistem Lahan Sawah Sebagai Sumber Isolat Pupuk Hayati Penambat Nitrogen

Nana Danapriatna^{1*)}

¹⁾Fakultas Pertanian, Universitas Islam "45", Bekasi 17113

*Penulis untuk korespondensi: nadaprina@yahoo.co.id

Diterima 21 April 2016/Disetujui 23 Juni 2016

ABSTRACT

Utilization of Azotobacter and Azospirillum as microbial N₂ fixation may be a solution in reducing the use of inorganic N fertilizer. Inoculation of microbial N₂ fixation requires superior isolates in N₂ fixation and high viability. A screening experiment to get the Azotobacter and Azospirillum isolates superior in N₂ fixation and high viability in paddy field has been performed at the Laboratory of Biology and Biotechnology soil, Faculty of Agriculture, Universitas Padjadjaran. Isolates taken from the rhizosphere and roots of paddy at Sukatani and Karangbahagia–Bekasi, Rengsdengklok - Karawang, Jatinangor - Sumedang and Ciparay - Bandung. The results obtained bacterial isolates are superior in N₂ fixation and viability were Azotobacter chroococcum from rhizosphere of paddy Ciherang varieties at Rengsdengklok-Karawang and Azospirillum irakense from roots of paddy Ciherang varieties at Ciparay-Bandung.

Keywords: Azospirillum sp, Azotobacter sp, Biofertilizer, N fixation, Paddy field

ABSTRAK

Pemanfaatan Azotobacter dan Azospirillum sebagai mikroba fiksasi N₂ dapat menjadi solusi dalam mengurangi penggunaan pupuk N anorganik. Inokulasi mikroba fiksasi N₂ tersebut memerlukan isolat yang unggul dalam fiksasi N₂ dan viabilitasnya tinggi. Sebuah percobaan penjaringan Azotobacter sp dan Azospirillum sp untuk mendapatkan isolat yang unggul dalam menambat N₂ dan tinggi viabilitasnya pada lahan sawah telah dilakukan di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran. Isolat diambil dari rizosfir dan padi akar di Sukatani dan Karangbahagia - Bekasi, Rengsdengklok - Karawang, Jatinangor - Sumedang dan Ciparay - Bandung. Hasil penelitian didapat isolat bakteri yang unggul dalam fiksasi N₂ dan viabilitasnya yaitu Azotobacter chroococcum dari rizosfir padi sawah varietas ciherang di Rengsdengklok-Karawang dan Azospirillum irakense dari akar padi sawah varietas ciherang di Ciparay-Bandung.

Kata kunci : Azospirillum sp, Azotobacter sp, pupuk hayati, penambat N, sawah

PENDAHULUAN

Program intensifikasi lahan sawah dalam rangka meningkatkan produksi beras nasional menyebabkan terjadinya peningkatan penggunaan pupuk anorganik terutama urea sebagai sumber nitrogen. Peningkatan pemupukan anorganik terutama urea pada lahan sawah dan praktek membakar jerami padi oleh petani berdampak pada menurunnya kesuburan dan kesehatan tanah. Oleh karena itu perlu upaya perbaikan kesuburan dan pemulihan kesehatan tanah. Salah satu tindakan dalam rangka pemulihan kesehatan dan kesuburan lahan sawah tersebut dapat dilakukan dengan memanfaatkan pupuk hayati (*biofertilizers*) yang adaptif pada ekosistem lahan sawah. Sebagaimana hasil penelitian Gharib *et al.* (2008) bahwa inokulasi dengan bakteri penambat nitrogen dapat meningkatkan populasi rizobakteria penambat N₂ yang merupakan indikator sensitif dari kesehatan tanah.

Aplikasi pupuk hayati penambat nitrogen seperti *Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp. Pada

beberapa penelitian mampu menurunkan penggunaan urea, meningkatkan kesehatan tanah dan hasil tanaman padi (Simarmata, 1994; Danapriatna, 2010) sehingga dapat dipertimbangkan untuk diaplikasikan pada padi sawah.

Peningkatan produksi padi sawah melalui aplikasi pupuk hayati memerlukan isolat indigenus yang telah beradaptasi dengan lingkungan tanah dan tanaman dimaksud. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Akbari *et al.* (2007) bahwa strain indigenus lebih baik dari pada strain introduksi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman karena telah beradaptasi dengan lingkungannya. Umumnya *Azotobacter* yang digunakan sebagai pupuk hayati berasal dari rizosfer tanaman lahan kering. Isolasi *Azotobacter* dari rizosfer padi di lahan sawah belum banyak dilakukan.

Kebanyakan penelitian *Azotobacter* dan *Azospirillum* di lahan sawah belum mempertimbangkan daya hidup maupun aktivitas fiksasi N₂ di bawah tekanan oksigen rendah akibat penggenangan. Padahal menurut Tschapek dan Giambiagi (1955) *Azotobacter* menggunakan sumber

energi lebih baik pada tekanan O₂ rendah seperti di tanah basah. Pendapat tersebut diperkuat oleh Omari *et al.* (2004) yang membuktikan bahwa penggenangan meningkatkan populasi *Azotobacter* tetapi populasi *Azospirillum* menurun.

Berdasarkan uraian di atas, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan isolat bakteri fiksasi N₂ (*Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp) yang unggul dari ekosistem lahan sawah dan menguji daya hidup serta aktivitas fiksasi N₂ kedua bakteri tersebut pada tanah sawah.

BAHAN DAN METODE

Sumber isolat adalah rizosfir padi di areal persawahan Kecamatan Sukatani dan Karang Bahagia Kabupaten Bekasi; Kecamatan Rengsdengklok Kabupaten Karawang; Kecamatan Jatinangor Kabupaten Sumedang dan Kecamatan Ciparay Kabupaten Bandung. Isolasi dan seleksi bakteri *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp dilakukan di Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah, Fakultas Pertanian UNPAD. Percobaan dilaksanakan selama lima bulan.

Bahan percobaan yang digunakan adalah tanah sawah di rizosfir tanaman padi dan akar padi varietas Ciherang, IR 64 dan Mekongga pada fase vegetatif aktif, media Ashby untuk kultur *Azotobacter* sp. dan Nfb dan Okon untuk *Azospirillum* sp.

Isolasi *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp

Pengambilan sampel tanah untuk isolasi *Azotobacter* sp dilakukan secara komposit dari lima titik rizosfir tanaman padi sawah untuk setiap lokasi sampel. Pengambilan akar padi untuk isolasi *Azospirillum* sp dilakukan dengan cara mencabut sebagian rumpun tanaman pada lima titik yang sama dengan pengambilan tanah.

Isolasi *Azotobacter* sp dilakukan dengan metode pengkayaan pada medium cair Ashby bebas N pada suhu 30°C dan pemisahan koloni dilakukan dengan metode gores pada lempeng agar media yang sama pada suhu 30°C (Subba Rao, 1982). Isolasi *Azospirillum* sp dari akar padi dilakukan dengan metode pengkayaan pada agar tegak semi solid Nfb pada suhu 30°C (Dobereiner, 1995). Pemisahan koloni dari pelikel yang terbentuk di bawah permukaan agar semi solid dilakukan pada lempeng agar Okon pada suhu inkubasi 30°C. Pemurnian isolat dilakukan dengan menggoreskan koloni tunggal yang terbentuk di atas lempeng agar medium Ashby untuk *Azotobacter* sp dan Okon untuk *Azospirillum* sp. Isolat bakteri hasil penjarangan diseleksi kembali berdasarkan kapasitas fiksasi N₂ menggunakan metode acetylene reduction assay (ARA) (Olivares *et al.*, 1996) dan kepadatan bakteri dalam kultur cair (Schinner *et al.*, 1995).

Seleksi Isolat Berdasarkan Fiksasi N₂ dan Kepadatan Bakteri

Seleksi isolat dilakukan berdasarkan uji kapasitas fiksasi N₂ pada media cair Ashby untuk *Azotobacter* sp dan Okon untuk *Azospirillum* sp. Sebanyak 50 mL media ditempatkan di dalam gelas Erlenmeyer 100 mL yang diinokulasi oleh 10 % kultur murni isolat *Azotobacter* sp atau *Azospirillum* sp. Kultur diinkubasi di atas gyratory shaker pada suhu kamar selama 72 jam dengan kecepatan putaran 110 rpm. Akhir inkubasi diukur kapasitas fiksasi N₂ menggunakan metode ARA (Olivares *et al.*, 1996) dan kepadatan sel bakteri (*Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp) menggunakan metode plat pengenceran (Schinner *et al.*, 1995). Kemudian dilakukan analisis klaster berdasarkan kemampuan memfiksasi N₂ dan kepadatan bakteri untuk mengetahui isolat unggulan yang terpilih menggunakan perangkat lunak Minitab 15.0. Isolat terpilih dari analisis klaster diukur kemampuan produksi hormon giberelin, sitokinin dan auksin yang diukur dengan HPLC menurut Chen (1987).

Uji Hayati Isolat Terseleksi pada Tanah Sawah Steril

Percobaan dilakukan dua seri yaitu percobaan isolat *Azotobacter* sp dan isolat *Azospirillum* sp. Media tanah sawah steril yang digunakan adalah tanah sawah dari SPLPP unit Ciparay dengan kandungan C organik rendah (1,25 %) dan N total rendah (0,12 %). Percobaan dilaksanakan di rumah kaca dan Laboratorium Biologi dan Bioteknologi Tanah, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan perlakuan masing-masing setiap seri percobaan adalah 5 isolat terpilih berdasarkan uji klaster dengan kepadatan 10⁷ cfu mL⁻¹ dan ulangan 3 kali.

- A. Uji hayati isolat *Azotobacter* sp dengan perlakuan sebagai berikut : tanpa isolat (a₀); Isolat *Azotobacter* sp AZT 4.3 (a₁); Isolat *Azotobacter* sp AZT 5.1 (a₂); Isolat *Azotobacter* sp AZT 5.2 (a₃); Isolat *Azotobacter* sp AZT 5.3 (a₄) dan Isolat *Azotobacter* sp AZT 9.3 (a₅).
- B. Uji hayati isolat *Azospirillum* sp dengan perlakuan sebagai berikut : tanpa isolat (b₀); Isolat *Azospirillum* sp AZSP 7.2 (b₁); Isolat *Azospirillum* sp AZSP 8.1 (b₂); Isolat *Azospirillum* sp AZSP 9.2 (b₃); Isolat *Azospirillum* sp AZSP 13 (b₄); Isolat *Azospirillum* sp AZSP 14 (b₅).

Bibit padi berumur satu minggu ditanam pada botol berukuran 100 mL yang berisi 75 g tanah sawah steril dengan kondisi air macak-macak. Inokulasi bakteri dilakukan segera setelah penanaman bibit padi. Kultur ini ditempatkan selama 21 hari di dalam rumah kaca dan dilakukan penyiraman secara rutin empat hari sekali sebanyak 4 mL untuk mempertahankan kondisi tanah macak-macak (kadar sekitar 125 %).

Setelah tanaman berumur 21 hari diukur kapasitas fiksasi N₂ menggunakan metode ARA, panjang akar, tinggi pupus, nisbah pupus akar (NPA) berdasarkan bobot pupus dan akar setelah pemanasan 70°C.

Data dianalisis dengan analisis ragam pada taraf 5 % dan dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan pada taraf 5 %. Isolat *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp yang unggul diidentifikasi berdasarkan karakteristik biokimia mengacu pada klasifikasi menurut Holt *et al.* (1994).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi *Azotobacter* sp. dan *Azospirillum* sp.

Isolasi *Azotobacter* sp dari sampel tanah rizosfir padi sawah dilakukan dengan menggunakan media selektif Asbhy cair (Subba-Rao, 1982). Pelikel yang terbentuk di atas permukaan Asbhy cair kemudian ditumbuhkan pada cawan Petri berisi media Asbhy padat dengan cara digores untuk mendapatkan isolat murni *Azotobacter*. Koloni yang terbentuk pada cawan Petri berisi media Asbhy padat kemudian dipilih yang berbentuk cembung, berlendir dan terpisah untuk ditumbuhkan lagi dalam cawan Petri baru berisi Asbhy padat sebagai upaya pemurnian isolat.

Isolasi *Azospirillum* sp dari akar padi dilakukan dengan menggunakan media Nfb semi solid (Dobereiner, 1995). Pelikel yang terbentuk di bawah permukaan (± 2 mm) pada media Nfb semi solid

diambil menggunakan ose untuk ditumbuhkan di cawan Petri berisi media Okon padat dengan cara digores sebagai upaya untuk memurnikan isolat *Azospirillum* sp. Koloni bakteri yang terbentuk pada cawan Petri dari kedua jenis media yaitu Asbhy dan Okon kemudian diuji pewarnaan gram. Bakteri yang menunjukkan gram negatif ditumbuhkan lagi pada agar miring masing-masing berisi Asbhy padat untuk *Azotobacter* sp dan Okon untuk *Azospirillum* sp.

Proses penapisan menghasilkan 24 isolat *Azotobacter* dan 19 isolat *Azospirillum*. Didapatkannya isolat kedua bakteri pemfiksasi N₂ sejalan dengan penelitian Hindersah dan Gofar (2008) yang berhasil mengisolasi *Azotobacter* dari tanah rawa tengah di Palembang serta Dewi *et al.* (2008) dari lahan sawah di Bandung. Penelitian Rusmana dan Hadijaya (1994) berhasil mengisolasi *Azospirillum* dari perakaran padi sawah.

Seleksi *Azotobacter* sp

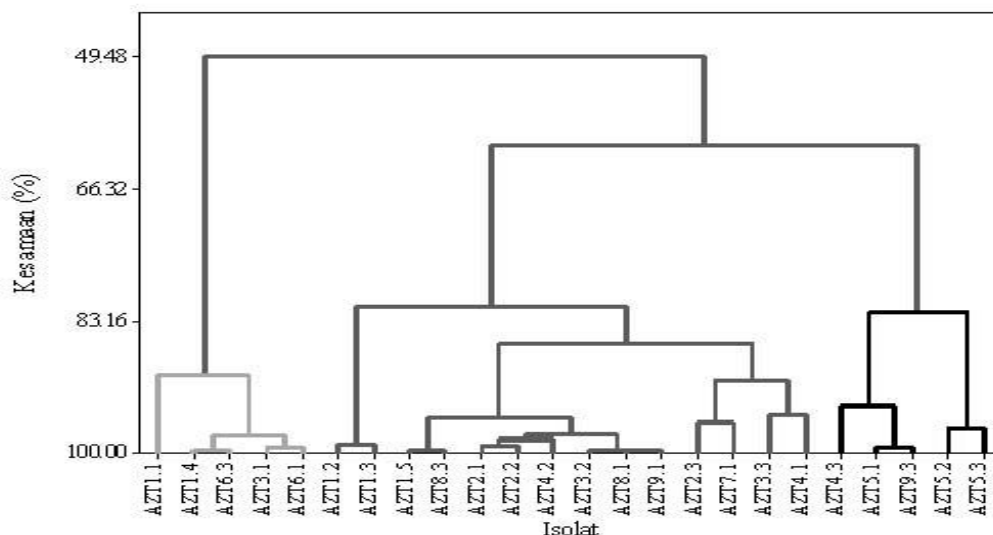
Kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan bakteri hasil penapisan bervariasi. Kapasitas fiksasi N₂ isolat *Azotobacter* berkisar dari 24,64 sampai dengan 134,29 nmol C₂H₄ g⁻¹ jam⁻¹ dan kepadatan berkisar dari 1,1 sampai dengan 2,4 x 10⁹ cfu mL⁻¹ (Tabel 1). Berdasarkan kapasitas penambatan N₂ dari bakteri dan tingginya kepadatan sel bakteri menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp yang berhasil diisolasi dari ekosistem lahan sawah mempunyai kemampuan dalam memfiksasi N₂ udara dan viabilitasnya tinggi.

Tabel 1. Kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan isolat *Azotobacter* sp

Kode Isolat	Sumber Isolat	ARA (nmol C ₂ H ₄ g ⁻¹ jam ⁻¹)	Kepadatan (x 10 ⁹ cfu mL ⁻¹)
AZT1.1	Rizosfir padi Var. Mekongga	24,64	1,1
AZT1.2	Rizosfir padi Var. Mekongga	59,29	2,0
AZT1.3	Rizosfir padi Var. Mekongga	60,36	1,2
AZT1.4	Rizosfir padi Var. Mekongga	34,29	1,1
AZT1.5	Rizosfir padi Var. Mekongga	71,79	1,2
AZT2.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	76,79	2,4
AZT2.2	Rizosfir padi Var. Ciherang	77,50	1,6
AZT2.3	Rizosfir padi Var. Ciherang	93,57	2,1
AZT3.1	Rizosfir padi Var. IR 64	36,43	1,8
AZT3.2	Rizosfir padi Var. IR 64	75,36	1,5
AZT3.3	Rizosfir padi Var. IR 64	82,86	1,2
AZT4.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	88,21	2,0
AZT4.2	Rizosfir padi Var. Ciherang	78,93	1,4
AZT4.3	Rizosfir padi Var. Ciherang	108,21	1,8
AZT5.1	Rizosfir padi Var. Cigeulis	115,36	1,7
AZT5.2	Rizosfir padi Var. Cigeulis	130,71	1,9
AZT5.3	Rizosfir padi Var. Cigeulis	134,29	2,0
AZT6.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	37,14	1,4
AZT6.3	Rizosfir padi Var. Ciherang	34,64	1,5
AZT7.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	97,86	1,3
AZT8.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	75,36	1,1
AZT8.3	Rizosfir padi Var. Ciherang	71,43	1,2
AZT9.1	Rizosfir padi Var. Ciherang	75,00	1,2
AZT9.3	Rizosfir padi Var. Ciherang	114,64	2,0

Analisis kluster terhadap 24 isolat *Azotobacter* berdasarkan kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatannya diperoleh tiga kelompok (Gambar 1). Kelompok pertama terdiri dari lima isolat, kelompok kedua terdiri dari 14 isolat dan kelompok ketiga terdiri dari lima isolat. Lima isolat anggota kelompok pertama (AZT 4.3, AZT 5.1, AZT 5.2, AZT 5.3 dan AZT 9.3)

merupakan isolat-isolat dengan kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan yang lebih tinggi dari pada kelompok lainnya. Kapasitas fiksasi N₂ dari lima isolat terpilih ini berkisar dari 108,21 sampai dengan 134,29 nmol C₂H₄ g⁻¹ jam⁻¹. Lima isolat ini digunakan pada percobaan uji hayati untuk memilih satu isolat *Azotobacter* sp unggulan.

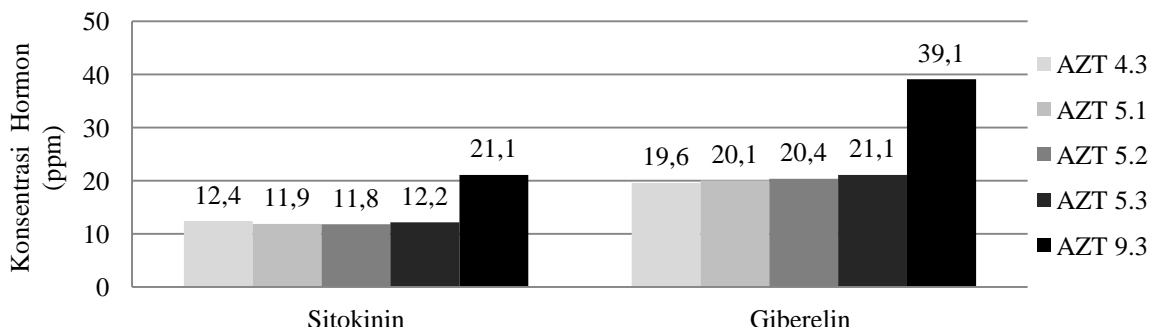


Keterangan: Kelompok 1 : AZT4.3, 5.1, 5.2, 9.3, dan 5.3
 Kelompok 2 : AZT 1.2,1.3, 1.5, 8.3, 2.1, 2.2, 4.2, 3.2, 8.1, 9.1,2.3,7.1, 3.3, dan 4.1
 Kelompok 3 : AZT 1.1, 1.4, 6.3, 3.1, dan 6.1

Gambar 1. Dendrogram kluster 24 Isolat *Azotobacter* sp berdasarkan kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan bakteri

Selain mampu memfiksasi N₂, isolat *Azotobacter* sp terpilih juga memproduksi hormon tumbuh. Hasil pengukuran sitokinin lima isolat *Azotobacter* sp berkisar dari 11,8 sampai dengan 21,1 ppm dan giberelin berkisar dari 19,6 sampai dengan 39,1 ppm (Gambar 2). Diperolehnya isolat *Azotobacter* yang mampu memproduksi hormon

tumbuh sejalan dengan beberapa penelitian yang mengungkap bahwa *Azotobacter* sp dapat menambat N (Wedhastris, 2002) dan menghasilkan sitokinin (Taller dan Wong, 1989) dan giberelin (Mrkovacki dan Milic, 2001; Hindersah dan Simarmata, 2004).



Gambar 2. Produksi hormon tumbuh dari lima isolat *Azotobacter* sp terseleksi dalam media Asbhy cair

Seleksi *Azospirillum* sp

Kapasitas fiksasi N₂ *Azospirillum* sp berkisar dari 26,79 sampai dengan 132,86 nmol C₂H₄ g⁻¹ jam⁻¹ dan kepadatan berkisar dari 1,1 sampai dengan 2,3 x 10⁹ cfu mL⁻¹ (Tabel 2.). Berdasarkan tabel tersebut terlihat bahwa *Azospirillum* sp yang berhasil diisolasi

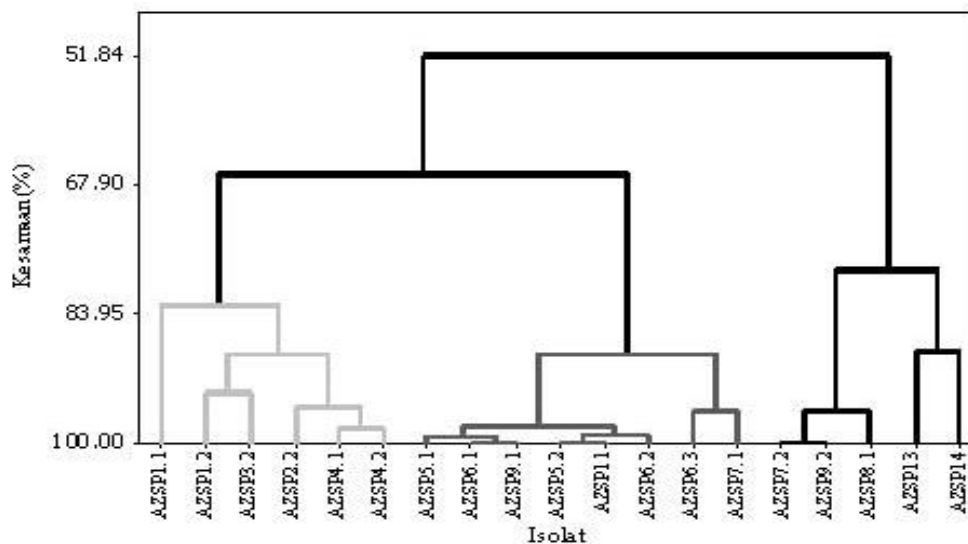
dari akar padi sawah mempunyai kemampuan dalam menambat N₂. Kemampuan penambatan N₂ oleh *Azospirillum* sp tersebut sejalan dengan hasil penelitian Rusmana dan Hadijaya (1994) yang berhasil mengisolasi *Azospirillum* dari akar padi dengan rata-rata nilai ARA yaitu 25,84 nmol C₂H₄ g⁻¹ jam⁻¹.

Tabel 2. Kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan isolat *Azospirillum* sp

Kode Isolat	Sumber Isolat	ARA (nmol C ₂ H ₄ g ⁻¹ jam ⁻¹)	Kepadatan (x 10 ⁶ cfu mL ⁻¹)
AZSP1.1	Akar padi Var. Mekongga	26,79	1,8
AZSP1.2	Akar padi Var. Mekongga	55,00	1,1
AZSP2.2	Akar padi Var. Ciherang	43,21	1,3
AZSP3.2	Akar padi Var. IR 64	48,57	1,7
AZSP4.1	Akar padi Var. Ciherang	37,86	1,7
AZSP4.2	Akar padi Var. Ciherang	39,64	1,9
AZSP5.1	Akar padi Var. Cigeulis	72,86	1,6
AZSP5.2	Akar padi Var. Cigeulis	75,36	1,8
AZSP6.1	Akar padi Var. Ciherang	73,57	1,7
AZSP6.2	Akar padi Var. Ciherang	75,36	1,1
AZSP6.3	Akar padi Var. Ciherang	83,93	1,4
AZSP7.1	Akar padi Var. Ciherang	87,86	1,3
AZSP7.2	Akar padi Var. Ciherang	105,36	2,3
AZSP8.1	Akar padi Var. Ciherang	101,43	2,0
AZSP9.1	Akar padi Var. Ciherang	73,57	1,6
AZSP9.2	Akar padi Var. Ciherang	105,36	2,2
AZSP11	Akar padi Var. Ciherang	75,36	1,9
AZSP13	Akar padi Var. Ciherang	120,71	1,4
AZSP14	Akar padi Var. Ciherang	132,86	1,8

Berdasarkan analisis kluster terhadap 19 isolat *Azospirillum* dari kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatannya diperoleh tiga kelompok (Gambar 3). Kelompok pertama terdiri dari lima isolat, kelompok kedua terdiri dari delapan isolat dan kelompok ketiga terdiri dari enam isolat. Lima isolat anggota kelompok pertama (AZSP 7.2, AZSP 8.1, AZSP 9.2, AZSP 13

dan AZSP 14) merupakan isolat-isolat yang mempunyai kemampuan fiksasi N₂ dan kepadatan yang lebih tinggi daripada kelompok lainnya. Kapasitas fiksasi N₂ lima isolat terpilih berkisar dari 101,43 sampai dengan 132,86 nmol C₂H₄ g⁻¹ jam⁻¹. Lima isolat ini digunakan pada percobaan uji hayati untuk memilih satu isolat *Azospirillum* sp. unggulan.

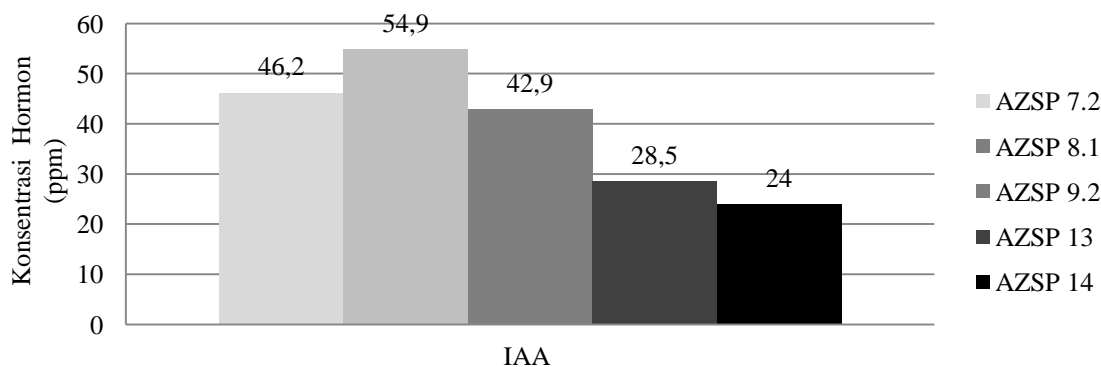


Keterangan: Kelompok 1 : AZSP 7.2, 9.2, 8.1, 13, dan 14
 Kelompok 2 : AZSP 5.1, 6.1, 9.1, 5.2, 11, 6.2, 6.3, dan 7.1
 Kelompok 3 : AZSP 1.1, 1.2, 3.2, 2.2, 4.1, dan 4.2

Gambar 3. Dendrogram kluster 19 isolat *Azospirillum* sp berdasarkan kapasitas fiksasi N₂ dan kepadatan bakteri

Selain mampu memfiksasi N udara, isolat *Azospirillum* sp. terpilih juga memproduksi hormon tumbuh IAA. Hasil pengukuran IAA dari lima isolat *Azospirillum* sp. berkisar dari 24,0 sampai dengan 54,9 ppm (Gambar 4.). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rusmana dan Hadijaya (1994) yang berhasil mengisolasi *Azospirillum* dari akar padi

sawah dan mampu memfiksasi N serta penelitian Lestari *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa *Azospirillum* mampu menghasilkan auksin (IAA) pada kultur cair yang barangkali berpengaruh lebih besar terhadap pertumbuhan tanaman daripada N yang ditambah oleh bakteri tersebut.



Gambar 4. Produksi hormon tumbuh lima isolat *Azospirillum* sp. terseleksi dalam media Okon cair

Uji Hayati Isolat *Azotobacter* sp

Inokulasi isolat *Azotobacter* sp yang berbeda berpengaruh nyata meningkatkan nilai ARA tanah, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap tinggi pupus, panjang akar dan nisbah pupus akar (NPA) (Tabel 3.).

Inokulasi *Azotobacter* sp dapat meningkatkan nilai ARA mulai dari 140,6% (AZT 5.3) sampai dengan 357,8% (AZT 9.3) lebih tinggi daripada kontrol. Fakta ini menunjukkan bahwa *Azotobacter* sp yang diinokulasi tinggi viabilitas dan kapasitasnya

dalam menambat N₂ pada lahan sawah dengan kondisi air macak-macak (kadar air 125%). Hanya saja inokulasi *Azotobacter* sp tidak nyata meningkatkan panjang akar, tinggi pupus dan NPA. Hal ini diduga masih rendahnya sumbangan N dari tambatan *Azotobacter* sp akibat rendahnya C-organik tanah (1,25%) sebagai sumber energi bagi bakteri tersebut. Berdasarkan hasil uji hayati maka isolat AZT 9.3 merupakan isolat unggul dan hasil identifikasi isolat tersebut adalah *Azotobacter chroococcum*.

Tabel 3. Pengaruh isolat *Azotobacter* sp. terhadap panjang akar, tinggi pupus, NPA dan kapasitas memfiksasi N₂

Perlakuan	Panjang Akar (cm)	Tinggi Pupus (cm)	NPA	ARA (nmol C ₂ H ₄ g ⁻¹ jam ⁻¹)
Tanpa Isolat	9.67 a	30.17 a	2.17 a	9.05 a
AZT 4.3	10.67 a	31.17 a	1.61 a	25.59 ab
AZT 5.1	8.33 a	31.50 a	2.33 a	27.38 c
AZT 5.2	11.50 a	33.50 a	2.00 a	25.59 bc
AZT 5.3	8.67 a	31.33 a	1.78 a	21.78 b
AZT 9.3	10.00 a	32.10 a	1.67 a	41.43 d

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf kecil yang sama dalam kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.

Uji Hayati Isolat *Azospirillum* sp.

Inokulasi isolat *Azospirillum* sp berpengaruh nyata terhadap peningkatan nilai ARA, tetapi tidak berpengaruh nyata terhadap panjang akar, tinggi pupus dan NPA (Tabel 4.). Inokulasi *Azospirillum* sp isolat AZSP 14 dapat meningkatkan nilai ARA tanah mulai dari 316,1% (AZSP 7.2) sampai dengan 535,5% (AZSP 14) lebih tinggi daripada kontrol. Adanya

peningkatan nilai ARA yang nyata pada tanah yang diinokulasi *Azospirillum* sp ini menunjukkan bahwa bakteri tersebut mampu beradaptasi dan tinggi kapasitasnya dalam menambat N₂ pada lahan sawah dengan kondisi macak-macak.

Meskipun demikian, panjang akar, tinggi tanaman dan NPA tidak terjadi peningkatan yang nyata akibat inokulasi *Azospirillum* sp. Hal ini terjadi diduga sebagai akibat rendahnya N hasil tambatan

bakteri tersebut. Rendahnya sumber energi bagi bakteri tersebut yang berasal dari C-organik tanah (1,25%) merupakan penyebab tidak optimalnya N hasil tambatan. Selain itu, tidak nyatanya pengaruh inokulasi *Azospirillum* sp terhadap panjang akar dan tinggi pupus diduga rendahnya sumber C yang berasal

dari eksudat akar karena masih terbatasnya pertumbuhan tanaman pada umur 21 hari setelah semai. Berdasarkan uji hayati, *Azospirillum* sp isolat AZSP 14 merupakan isolat unggulan dan hasil identifikasi isolat tersebut adalah *Azospirillum irakense*.

Tabel 4. Pengaruh isolat *Azospirillum* sp. terhadap panjang akar, tinggi pupus, NPA dan kapasitas memfiksasi N₂

Perlakuan	Panjang Akar (cm)	Tinggi Pupus (cm)	NPA	ARA (nmol C ₂ H ₄ g ⁻¹ jam ⁻¹)
Tanpa Isolat	9.70 a	33.00 a	2.2 a	7.38 a
AZSP 13	8.90 a	28.73 a	2.0 a	46.07 d
AZSP 14	11.63 a	32.73 a	2.2 a	46.90 d
AZSP 7.2	10.17 a	32.83 a	2.0 a	30.71 b
AZSP 8.1	9.07 a	31.93 a	2.2 a	36.07 bc
AZSP 9.2	9.47 a	34.20 a	1.9 a	39.17 cd

Keterangan: angka yang diikuti dengan huruf kecil yang sama dalam kolom menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan uji DMRT pada taraf nyata 5%.

KESIMPULAN

Hasil penapisan *Azotobacter* sp dan *Azospirillum* sp dari ekosistem lahan sawah berdasarkan kapasitas fiksasi N₂ dan uji hayati diperoleh masing-masing isolat unggul yaitu *Azotobacter* AZT 9.3 yang teridentifikasi yaitu *Azotobacter chroococcum* asal rizosfir padi sawah varietas Ciherang dari Kecamatan Rengasdengklok, Karawang dan *Azospirillum* AZSP 14 yang teridentifikasi sebagai *Azospirillum irakense* asal akar padi sawah varietas Ciherang dari Kecamatan Ciparay, Bandung.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada staf laboratorium Biologi dan Bioteknologi Faperta UNPAD atas bantuan analisis.

DAFTAR PUSTAKA

Akbari, G.A., S.M. Arab, H.A Alikhani, I. Allahdadi and M.H. Arzanesh. 2007. Isolation and selection of indegenous *Azospirillum* spp. and the IAA of superior strains effects on wheat roots. World J.Agric.Sci. 3(4) : 523 – 529.

Chen. C-M. 1987. Characterization of Cytokinins and Related Compounds by HPLC dalam Linskens. HF. And J.F Jackson (ed.) High Performance Liquid Chromatography in Plant Science. Springer-Verlag, Berlin.

Danapriatna, N., R. Hindersah dan Y. Sastro. 2010. Pengembangan pupuk hayati *Azotobacter* DAN *Azospirillum* untuk meningkatkan produktivitas dan efisiensi penggunaan pupuk N di atas 15 %

pada tanaman padi. (Laporan penelitian KKP3T Deptan TA 2010, Nomor : 1148/LB.602/I.1/4/2010). Universitas Islam “45” Bekasi Kerjasama dengan Badan litbang Departemen pertanian. Bekasi.

Dewi, T., A. Purnomo dan R. Hindersah. 2008. Kandungan logam berat dan populasi *Azotobacter* di lahan sawah terkontaminasi limbah industri di Bandung. Prosiding Seminar Nasional Himpunan Ilmu Tanah Indonesia. Palembang 17-18 Desember 2008. Hal 195-201.

Dobereiner. J. 1995. Isolation and identification of aerobic nitrogen-fixing bacteria from soil and plants. In Alef. K and P. Nanniperi (Eds.). Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry. Academic Press. London.

Gharib, F.A., L.A. Moussa and O.N. Massoud, 2008. Effect of compost and bio-fertilizers on growth, yield and essential oil of sweet marjoram (*Majorana hortensis*) plant. Int. J. Agri. Biol., 10: 381–387.

Hindersah, R. dan T. Simarmata. 2004. Kontribusi rizobakteri *Azotobacter* dalam meningkatkan kesehatan tanah melalui fiksasi N₂ dan produksi fitohormon di rizosfer. J. Natur Indon 6 : 127–133.

Hindersah, R. dan N. Gofar. 2008. Isolasi bakteri azotobacter dari rawa lebak kabupaten Ogan Ilir Propinsi Sumatera Selatan. 2008. Prosiding Seminar Nasional Himpunan Ilmu Tanah Indonesia. Palembang 17-18 Desember 2008. hal 92-97.

- Holt, J.G., N.R. Krieg, J.T. Shaley dan S.T. William. 1994. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. William dan Wilkins. Baltimore.
- Lestari, P., D.N. Susilowati dan E.I. Riyanti. 2007. Pengaruh hormon asam indol asetat yang dihasilkan *Azospirillum* sp. terhadap perkembangan akar padi. *J. AgroBiogen* 3 (2) : 66 – 72.
- Mrkovacki, N. and V. Milic. 2001. Use of *Azotobacter chroococcum* as potentially useful in agricultural application. *Ann. Microbiol.* 51 : 145-158.
- Omari, K., T. Mubyana, M.I. Matsheka, M.C. Bonyongo and E. Veenendaal. 2004. Flooding and its influence on diazotroph populations and soil nitrogen levels in the Okavango Delta. *South African Journal of Botany* 2004. 70 (5) : 734–740.
- Olivares, F.L., V.L.D. Baldani, V.M. Reis, J.L. Baldani. and J. Dobereiner. 1996. Occurrences of the endophytic diazotrophs *Herbaspirillum* spp. In root, stems and leaves predominantly of Graminae. *Biol. Fertil. Soils.* 21:197-209.
- Rusmana, I. dan D.D. Hadijaya. 1994. Aktivitas nitrogenase *Azospirillum* sp. Dan efektivitasnya dengan jagung. *Hayati* 1:51-54.
- Schinner, F., R. Ohlinger, E. Kandeler and R. Margesin. 1995. *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag. Berlin.
- Simarmata, T. 1994. Prospek Pemanfaatan Bioteknologi Tanah (*Azotobacter* sp. dengan Pupuk Kandang) dalam Meningkatkan Produktivitas Lahan Marginal Ultisol dengan Indikator Tanaman Tomat (*Lycopersicon esculentum*). *Jurnal Agrikultura* 5 (1) : 60 – 74.
- Subba-Rao, N.S. 1982. *Biofertilizers in Agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi, Bombay, Calcutta.
- Taller, B.J. dan T.Y. Wong. 1989. Cytokinins in *Azotobacter vinelandii* Culture Medium. *Appl. Environ. Microbiol.* 55 : 266-267.
- Tschapek, M. and N. Giambiagi. 1955. Nitrogen fixation of *Azotobacter* in soil —Its inhibition by oxygen. *Archives of Microbiology* 21: 376-390.
- Wedhastri, W. 2002. Isolasi dan seleksi *Azotobacter* spp. penghasil faktor tumbuh dan penambat nitrogen dari tanah masam. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan.* 3 (1) : 45-51.