



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN PENGHASIL *INDOLE ACETIC ACID* DARI TANAH PERKEBUNAN KELAPA SAWIT, JAMBI

NEZHARIA NURZA HARCA



**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2015**

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



PERNYATAAN MENGENAI TESIS DAN SUMBER INFORMASI SERTA PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa tesis berjudul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil *Indole Acetic Acid* Dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit” adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing dan belum diajukan dalam bentuk apapun kepada perguruan tinggi manapun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka di bagian akhir tesis ini.

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya kepada Institut Pertanian Bogor

Bogor, Januari 2015

Nezharia Nurza Harca
NIM G351120191

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



RINGKASAN

NEZHARIA NURZA HARCA. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil *Indole Acetic Acid* Dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit, Jambi. Dibimbing oleh NISA RACHMANIA MUBARIK dan ARIS TRI WAHYUDI.

Nitrogen merupakan unsur hara makro yang paling penting untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Unsur ini merupakan elemen utama yang terdapat dalam jaringan tanaman dan komponen penting penyusun protein, asam amino, koenzim dan beberapa senyawa metabolit sekunder. Jumlah keberadaan gas nitrogen (N_2) pada atmosfer sekitar 80%, tetapi nitrogen dalam bentuk N_2 tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman. Oleh karena itu pada bidang pertanian nitrogen merupakan faktor pembatas sehingga untuk mencukupi kebutuhan tanaman akan unsur ini diperlukan pemupukan. Penggunaan pupuk nitrogen sintetik semakin meningkat setiap tahunnya.

Beberapa mikroba dikenal mampu mengikat nitrogen bebas (N_2) dari atmosfer kemudian mengubahnya menjadi amonia (NH_3). Pemanfaatan mikroba penambat N_2 merupakan solusi untuk mengurangi ketergantungan akan pupuk nitrogen sintetik pada bidang pertanian sehingga dapat mengurangi pencemaran lingkungan. Selain mampu mengikat nitrogen bebas (N_2) mikroba ini juga mampu menghasilkan fitohormon yang dapat membantu pertumbuhan tanaman seperti *Indole Acetic Acid* (IAA). Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi bakteri penambat nitrogen dan penghasil senyawa fitohormon IAA dari tanah perkebunan kelapa sawit di sekitar Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi.

Sebanyak tujuh isolat bakteri penambat N berhasil diisolasi dari tanah rhizosfer perkebunan kelapa sawit di Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi. Identifikasi gen penyandi 16S rRNA dan pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat ITJ.2, ITJ.7, dan ITJ.9 memiliki kemiripan 100% dengan *Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685. Isolat ITJ.3 memiliki kemiripan 99% dengan *Ensifer adhaerens* galur NBRC 10038. Isolat ITJ.4 memiliki kemiripan 99% dengan *Microbacterium* sp. galur ST2. Isolat ITJ.5 memiliki kemiripan 99% dengan *Caulobacter segnis* galur ATCC 21756 dan isolat ITJ.6 memiliki kemiripan 96% dengan *Rhizobium grahamii* galur CCGE 502. Semua isolat bakteri penambat nitrogen mampu menghasilkan IAA dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Isolat uji dapat menghasilkan IAA pada medium pertumbuhan yang ditambahkan triptofan dengan kisaran 15.714 ppm sampai 35.793 ppm. Isolat ITJ.9 dapat menghasilkan IAA dengan konsentrasi tertinggi (35.793 ppm) sedangkan isolat ITJ.6 dapat menghasilkan IAA dengan konsentrasi terendah (15.714 ppm). Dua dari lima isolat (ITJ.2 dan ITJ.7) dapat mereduksi gas asetilen menjadi etilen dengan menggunakan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA). Konsentrasi gas etilen yang dihasilkan oleh kedua isolat berkisar 0.094 dan 0.092 ppm. Semua isolat uji tidak dapat menginduksi gejala hipersensitivitas pada daun tembakau.

Kata kunci: Bakteri penambat nitrogen, indole acetic acid, perkebunan kelapa sawit

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

SUMMARY

NEZHARIA NURZA HARCA. Isolation and Identification of Nitrogen Fixing and Producing Indole Acetic Acid Bacteria From Oil Palm Plantation In Jambi. Supervised by NISA RACHMANIA MUBARIK and ARIS TRI WAHYUDI.

Nitrogen is the most important element that support the plant growth. This nutrient is the main element in plant tissue and important component to construct protein, amino acid, coenzyme, and some other secondary metabolites. Total of nitrogen gas (N_2) in the atmosphere is approximately 80% but nitrogen in the form of N_2 can not be directly used by plant. Therefore in agriculture, nitrogen is the barrier. In order to fulfill the plant needs of this nutrient, it is needed to use fertilizer. The use of syntetic nitrogen fertilizers is increasing every year.

Some microbes are known to be able to bind nitrogen (N_2) from the atmosphere then convert it into ammonium (NH_3). Utilization of N fixing bacteria is the solution to reduce dependence on synthetic nitrogen fertilizer in agriculture so as to reduce environmental pollution. Beside being able to bind free nitrogen (N_2), this microbe is also capable of producing phytohormones which helps the growth of plant roos as Indole Acetic Acid (IAA). Therefore, this study is aimed to isolate the nitrogen-fixing bacteria and phytohormones IAA producer of oil palm plantation land around Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi.

Seven isolates N-fixing bacteria were obtained from soil of oil palm plantation around Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi. Identification isolates based on 16S rRNA gene and phylogenetic tree showed that isolates ITJ.2, ITJ.7 and ITJ.9 have 100% similarity with *Beijerinckia fluminensis* strain UQM 1685. Isolate ITJ.3 has 99% similarity with *Ensifer adhaerens* strain NBRC 10038. ITJ.4 isolate has 99% similarity with *Microbacterium* sp. strain ST2. Isolates ITJ.5 has 99% similarity with *Caulobacter segnis* strains ATCC 21756 and isolates ITJ.6 has 96% similarity with *Rhizobium grahamii* strains CCGE 502. All tested isolates were able to produced IAA in various concentrations. All those tested isolates showed IAA production in medium culture supplemented with tryptophan in range of 15.714 ppm to 35.793 ppm. Isolate ITJ.6 was able to synthesize IAA in the lowest concentration (15.714 ppm), whereas ITJ.9 was able to produce IAA in the highest concentration (35.793 ppm). Two of five isolates (ITJ.2 and ITJ.7) could reduce acetylene gas into ethylene by using the Acetylene Reduction Assay (ARA) method. The concentration of ethylene gas produced by the two isolates were 0.094 ppm and 0.092 ppm respectively. All isolates tested could not induced hypersensitivity reactions on tobacco leaves.

Keywords: Indole acetic acid, nitrogen fixing bacteria, oil palm plantation



© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak Cipta Milik IPB, Tahun 2015
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan atau menyebutkan sumbernya. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik, atau tinjauan suatu masalah; dan pengutipan tersebut tidak merugikan kepentingan IPB

Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apa pun tanpa izin IPB



ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN PENGHASIL *INDOLE ACETIC ACID* DARI PERKEBUNAN KELAPA SAWIT, JAMBI

NEZHARIA NURZA HARCA

Tesis
sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains
pada
Program Mikrobiologi

**SEKOLAH PASCASARJANA
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR
2015**

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Pengujian Luar Komisi pada Ujian Tesis: Dr Aris Tjahjoleksono, DEA

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Judul Tesis : Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil *Indole Acetic Acid* dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit, Jambi
Nama : Nezharia Nurza Harca
NIM : G351120191

Disetujui oleh
Komisi Pembimbing

Dr Nisa Rachmania Mubarik, MSi
Ketua

Prof Dr Aris Tri Wahyudi, MSi
Anggota

Diketahui oleh

Ketua Program Studi
Mikrobiologi

Prof Dr Anja Meryandini, MS

Dekan Sekolah Pascasarjana



Dr Ir Dahrul Syah, MScAgr

Tanggal Ujian: 7 Januari 2015

Tanggal Lulus: 02 FEB 2015



PRAKATA

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas segala karunia-Nya sehingga karya ilmiah ini berhasil diselesaikan. Tema yang dipilih dalam penelitian yang dilaksanakan sejak bulan September 2013 sampai September 2014 ini ialah Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Dan Penghasil *Indole Acetic Acid* Dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit, Jambi.

Terima kasih penulis ucapkan kepada Dr Nisa Rachmania Mubarik, MSi sebagai ketua komisi pembimbing dan Prof. Dr Aris Tri Wahyudi, MSi sebagai anggota komisi pembimbing, yang telah banyak memberikan nasehat, saran, motivasi, waktu konsultasi, serta solusi dari setiap permasalahan yang dihadapi penulis selama melaksanakan penelitian dan penyusunan karya ilmiah ini. Selain itu penulis ucapkan terima kasih kepada penguji luar komisi Dr Aris Tjahjoleksono, DEA dan kepada Prof Dr Anja Meryandini, MS selaku Ketua Program Studi Mikrobiologi IPB, yang telah memberikan motivasi selama studi dan masukan pada saat ujian sidang tesis. Terima kasih atas hibah penelitian ABS Funds dari kerjasama CRC-IPB tahun 2014 a.n. Dr Nisa Rachmania Mubarik MSi sehingga penelitian yang penulis lakukan dapat terlaksana dengan baik.

Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada Ibu Heni dan Bapak Jaka selaku staf Laboratorium Mikrobiologi IPB, Hamtini, Qurrota, Vita, Anja, Asrianto, Wulan, Rahmi, Hari, Dina, Mahyar, Lekta, Rika, Anik, Asril, Daning, Putu, Annisa, Suri, Syipa, Ismi, Rike, Lita dan Rosa serta seluruh teman-teman di Laboratorium Mikrobiologi IPB, atas dukungan, motivasi, dan bantuannya selama penelitian ini. Ucapan terima kasih tak terhingga juga penulis ucapkan kepada ayahanda HZ. Abidin Harun, SE, ibu Nuraini, dan adik-adikku tercinta dr. Azizah Dheni Nurza Harca dan Puttria Nurza Harca, S.Ikom tersayang atas doa, dukungan, kasih sayang, dan semangat yang diberikan. Terima kasih untuk teman-teman seperjuangan di Pascasarjana Mikrobiologi IPB angkatan 2012 serta seluruh pihak yang telah memberikan doa dan dukungannya, penulis ucapkan terima kasih.

Semoga karya ilmiah ini bermanfaat.

Bogor, Januari 2015

Nezharia Nurza Harca

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
PENDAHULUAN	1
Latar Belakang	1
Perumusan Masalah	2
Tujuan Penelitian	2
Manfaat Penelitian	2
Ruang Lingkup Penelitian	2
TINJAUAN PUSTAKA	3
Nitrogen	3
Bakteri Penambat Nitrogen	3
<i>Indole Acetic Acid</i> (IAA)	6
BAHAN DAN METODE	7
Bahan	7
Kerangka Penelitian	7
Waktu dan Tempat Penelitian	7
Isolasi Bakteri Penambat Nitrogen dari Tanah	8
Ekstraksi DNA	8
Amplifikasi Gen 16S rRNA	8
Uji Hipersensitivitas pada Daun Tembakau	9
Analisis Kemampuan Produksi <i>Indole Acetic Acid</i> (IAA)	9
Pengukuran Aktivitas Nitrogenase	9
Kurva Pertumbuhan	10
HASIL DAN PEMBAHASAN	11
Hasil	11
Pembahasan	17
SIMPULAN DAN SARAN	21
Simpulan	21
Saran	21
DAFTAR PUSTAKA	22
LAMPIRAN	26
RIWAYAT HIDUP	37

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

© Hak cipta dilindungi IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

DAFTAR TABEL

1	Morfologi isolat bakteri penambat nitrogen asal tanah perkebunan kelapa sawit	11
2	Analisis homologi sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri penambat nitrogen menggunakan program BLAST-N	13
3	Hasil pengukuran aktivitas nitrogenase	15

DAFTAR GAMBAR

1	Reduksi N ₂ menjadi NH ₃	5
2	Jalur biosintesis <i>Indole Acetic Acid</i> pada bakteri	6
3	Diagram alur penelitian	7
4	Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri penambat nitrogen	12
5	Visualisasi hasil elektroforesis ampifikasi gen 16S rRNA isolat bakteri penambat nitrogen pada gel agarosa 1% (± 1300 bp)	12
6	Konstruksi pohon filogenetik isolat bakteri penambat nitrogen menggunakan metode Neighbor Joining dengan nilai ulangan bootstrap 1000 x	13
7	Hasil pengamatan uji hipersensitivitas pada daun tembakau	14
8	Konsentrasi <i>Indole Acetic Acid</i> (IAA) yang dihasilkan isolat bakteri penambat nitrogen pada medium LG yang ditambahkan L-triptofan 1.0 mM selama 10 hari	15
9	Kurva pertumbuhan isolat ITJ.2; ITJ.7; dan ITJ.9	16

DAFTAR LAMPIRAN

1	Prosedur Isolasi DNA Genom Presto™ Mini gDNA Kit (Geneaid)	26
2	Karakteristik morfologi bakteri penambat nitrogen yang diisolasi dari rhizosfer tanah perkebunan kelapa sawit	28
3	Hasil uji biokimia isolat penambat nitrogen	29
4	Sekuen isolat ITJ.2	30
5	Sekuen isolat ITJ.3	31
6	Sekuen isolat ITJ.4	32
7	Sekuen isolat ITJ.5	33
8	Sekuen isolat ITJ.6	34
9	Sekuen isolat ITJ.7	35
10	Sekuen isolat ITJ.9	36

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang



Hak cipta dilindungi undang-undang

IPB Library

IPB Library

IPB Library

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengemukakan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Nitrogen merupakan elemen penting untuk mencapai hasil panen yang maksimal dalam bidang pertanian. Unsur ini banyak terdapat di atmosfer sekitar 80%, walaupun jumlahnya tersedia sangat besar tetapi tanaman tidak dapat langsung memanfaatkannya. Oleh karena itu amonium sulfat dan urea banyak digunakan dalam pertanian untuk mengatasi masalah keterbatasan nitrogen di dalam tanah. Pupuk nitrogen semakin banyak digunakan dalam bidang pertanian sebagai nutrisi tanaman. Konsumsi global pupuk nitrogen saat ini diperkirakan sekitar 100 juta ton per tahun (Hayatsu 2014). Penggunaan pupuk nitrogen sintetik secara berlebihan dapat memberikan dampak negatif terhadap lingkungan seperti, pencemaran air tanah dan adanya akumulasi bahan organik pada tanah. Pemberian bahan organik dengan nisbah C/N yang tinggi akan mengakibatkan pemupukan tidak efisien, karena tidak semua pupuk yang diberikan dapat diserap oleh tanaman (Hanafiah *et al.* 2006). Mikrob penambat nitrogen merupakan komponen penting di dalam tanah terhadap ketersediaan nitrogen bagi tanaman (Perez *et al.* 2014), karena mikrob tersebut memiliki kemampuan mengubah nitrogen bebas pada atmosfer menjadi amonia yang dibutuhkan oleh tumbuhan.

Penggunaan mikrob penambat nitrogen merupakan salah satu cara untuk mengurangi penggunaan nitrogen sintetik dalam proses pemupukan (Laskar dan Sharma 2013). Mikrob penambat nitrogen diharapkan dapat mengurangi kerusakan yang terjadi pada lingkungan akibat dari penggunaan pupuk sintetik yang berlebihan. Mikrob tanah yang mampu menambat nitrogen seperti *Azotobacter* sp. (Tejera *et al.* 2005), *Rhizobium* sp., dan *Azospirillum* sp. (Suliasih dan Widawati 2005). *Azotobacter* sp. juga mampu meningkatkan kandungan nitrogen pada kompos tandan kosong kelapa sawit sebesar 2,23% (Hasibuan *et al.* 2012). Penelitian Razie dan Iswandi (2005), melaporkan bahwa isolat *Azotobacter* spp. mampu memasok N untuk pertumbuhan awal tanaman padi IR-64 sebesar 2.34 % (setara dengan 2,2 % N dari pupuk urea). *Enterobacter* spp. galur NN145S dan galur NN143E yang diisolasi dari perkebunan tebu Guangxi, Tiongkok mampu meningkatkan biomassa dan kandungan nitrogen dari tebu yang setara dengan penggunaan 180 kg urea ha⁻¹ pada tahap pembibitan (Li *et al.* 2012).

Mikrob penambat N₂ seperti *Azotobacter* sp. selain dapat menambat N₂ bebas dari atmosfer juga dapat menghasilkan senyawa fitohormon seperti *Indole Acetic Acid* (IAA) yang dapat merangsang pertumbuhan akar (Glick 2005). Fitohormon IAA yang disekresikan oleh mikrob secara langsung dapat meningkatkan pertumbuhan akar dengan menstimulasi pemanjangan sel tanaman atau pembelahan sel sedangkan secara tidak langsung dapat menghasilkan 1-*aminocyclopropane-1-carboxylate* (ACC) deaminase (Patten dan Glick 2002). Penelitian Widiastuti *et al.* (2010), melaporkan bahwa *Azotobacter* spp. asal tanah Sumatera Selatan menghasilkan IAA sebesar 4,021.10⁻⁶ M dan dapat meningkatkan perkecambahan biji pada *Peuraria phaseoloides* sebesar 66 sampai 100%.

Jambi merupakan daerah yang sudah banyak mengalami alih fungsi lahan seperti pembukaan perkebunan kelapa sawit dan karet. Pembukaan lahan ini

diduga akan mempengaruhi dinamika mikroba yang ada pada daerah tersebut. Laporan mengenai mikroba penambat nitrogen yang mampu menghasilkan senyawa pemacu pertumbuhan *Indole Acetic Acid* (IAA) di daerah perkebunan kelapa sawit sekitar Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi sejauh ini belum pernah dilaporkan. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri penambat nitrogen yang dapat menghasilkan senyawa fitohormon IAA.

Perumusan Masalah

Unsur hara nitrogen (N) merupakan unsur hara utama yang membatasi pertumbuhan tanaman, karena unsur hara tersebut merupakan unsur hara makro yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah besar. Penggunaan pupuk nitrogen sintetik seperti urea selain mahal juga dapat menimbulkan pencemaran air tanah. Mikroba penambat N_2 memiliki potensi sebagai agens pupuk hayati sehingga diharapkan mampu mengurangi ketergantungan terhadap pupuk nitrogen sintetik.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi bakteri penambat nitrogen yang mampu menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) asal tanah perkebunan kelapa sawit disekitar Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi serta mengetahui aktivitas nitrogenase dan kemampuannya dalam menghasilkan zat pemacu tumbuh IAA.

Manfaat Penelitian

Identifikasi serta analisis kemampuan isolat bakteri penambat nitrogen dalam penelitian ini, diharapkan dapat memberikan informasi keragaman mikroba pada hutan yang telah dibuka untuk lahan perkebunan seperti perkebunan kelapa sawit. Hasil penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan informasi mengenai kemampuan yang dimiliki isolat bakteri khususnya potensinya sebagai agens pupuk hayati dalam dunia pertanian.

Ruang Lingkup Penelitian

Ruang lingkup dalam penelitian ini meliputi isolasi bakteri penambat nitrogen, uji hipersensitivitas, analisis kemampuan produksi *Indole Acetic Acid* (IAA), aktivitas nitrogenase, dan identifikasi gen 16S rRNA. Tahap identifikasi meliputi pengamatan morfologi, pewarnaan Gram, dan amplifikasi gen 16S rRNA. Uji hipersensitivitas dilakukan pada daun tembakau untuk melihat isolat bakteri bersifat patogen atau tidak. Analisis IAA meliputi pengukuran kultur isolat dalam memproduksi senyawa fitohormon IAA. Aktivitas nitrogenase dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat dalam mereduksi gas nitrogen bebas yang terdapat pada atmosfer.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

TINJAUAN PUSTAKA

Nitrogen

Nitrogen merupakan elemen hara yang penting bagi pertumbuhan tanaman. Sumber utama nitrogen di dalam tanah yaitu bahan organik tanah. Selain dari bahan organik tanah, nitrogen juga diperoleh dari gas N_2 di atmosfer melalui penambatan atau fiksasi nitrogen yang dilakukan oleh mikroba. Nitrogen merupakan unsur yang sangat dibutuhkan tanaman. Fungsi nitrogen bagi tanaman antara lain untuk pertumbuhan bagian vegetatif tanaman seperti daun, batang, dan akar, berperan penting dalam pembentukan zat hijau daun yang berguna dalam proses fotosintesis, membentuk protein serta meningkatkan hasil produktivitas tanaman.

Bentuk nitrogen yang digunakan oleh tanaman adalah ion nitrat (NO_3^-) dan ion amonium (NH_4^+). Ion-ion ini kemudian membentuk material kompleks seperti asam-asam amino dan asam-asam nukleat yang dapat langsung diserap dan digunakan oleh tanaman tingkat tinggi. Nitrogen merupakan unsur utama dalam meningkatkan produksi hasil tanaman dalam bidang pertanian. Unsur nitrogen jumlahnya sangat berlimpah di atmosfer namun permasalahannya bentuk nitrogen bebas ini tidak dapat langsung digunakan oleh tanaman. Oleh sebab itu nitrogen merupakan faktor pembatas terhadap pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Pemupukan merupakan kegiatan pemeliharaan tanaman yang bertujuan untuk memperbaiki kesuburan tanah melalui penyediaan unsur hara dalam tanah yang dibutuhkan oleh tanaman. Pemberian pupuk N yang berlebihan ini menyebabkan efisiensi pupuk menurun serta membahayakan tanaman dan lingkungan. Strategi pengelolaan hara N yang optimal bertujuan agar pemupukan dilakukan sesuai dengan kebutuhan tanaman sehingga dapat mengurangi kehilangan N dan meningkatkan serapan N oleh tanaman.

Bakteri Penambat Nitrogen

Interaksi antara mikroba dengan tanaman mungkin menguntungkan, merugikan atau netral (tidak memberikan pengaruh) bagi tanaman. Mikroba yang bermanfaat bagi tanaman terdiri atas dua jenis yaitu, hidup bersimbiosis dan hidup bebas tanpa memerlukan inang. Mikroba yang hidup bersimbiosis dengan tanaman membentuk struktur khusus pada tanaman misalnya nodul pada akar tanaman legume sedangkan yang hidup bebas sering ditemukan di daerah perakaran tanaman. Rhizobakteria merupakan mikroba yang hidup di sekitar daerah rhizosfer yang memberikan keuntungan bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Mikroba ini sering disebut dengan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) (Richardson *et al.* 2009).

Mikroba PGPR membantu pertumbuhan tanaman dengan dua mekanisme yaitu langsung dan tidak langsung. PGPR membantu pertumbuhan tanaman secara langsung dengan beberapa cara seperti, membantu tanaman memperoleh nitrogen (fiksasi N_2 di atmosfer), mensintesis siderofor, melarutkan fosfat dan menghasilkan zat pengatur tumbuh (fitohormon) yang dapat memodulasi

pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Kloepper *et al.* 1989; Glick 2005; Ahmad *et al.* 2008).

Beberapa mikroba yang hidup di daerah rhizosfer dikenal sebagai penambat gas N₂ di atmosfer. Terbatasnya jumlah nitrogen di dalam tanah merupakan faktor pembatas bagi produktivitas tanaman. Pemberian pupuk kimia bertujuan untuk memenuhi kebutuhan tanaman terhadap unsur nitrogen sehingga dapat meningkatkan produktivitas tanaman. Penggunaan pupuk kimia dalam jumlah besar atau secara terus-menerus pada bidang pertanian memiliki efek negatif terhadap lingkungan seperti pencemaran air tanah dan akumulasi bahan organik pada tanah. *Biological Nitrogen Fixation* merupakan salah satu solusi untuk mengurangi penggunaan pupuk kimia sehingga dapat mengurangi efek negatif yang ditimbulkan terhadap lingkungan. Menurut Pepe *et al.* (2013), mikroba ini mampu meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman dengan cara yang lebih ramah lingkungan.

Mikroba yang dapat menambat melakukan penambatan N₂ secara biologi disebut diazotrof. Reduksi atau pengubahan gas nitrogen bebas (N₂) di atmosfer menjadi amonia (NH₃) dikatalis oleh enzim nitrogenase (Zehr *et al.* 2003). Reaksi reduksi ini memerlukan energi (ATP) yang besar untuk memutuskan ikatan rangkap tiga pada gas N₂ (White 2000). Enzim nitrogenase terdiri atas 2 jenis komponen protein yang sangat sensitif terhadap oksigen. Komponen 1 (dinitrogenase) terdiri atas protein besi-molibdenum yang mengandung 2 subunit. Komponen 2 (dinitrogenase reduktase) terdiri atas protein besi-sulfur (Moat *et al.* 2002).

Nitrogenase memerlukan donor elektron dan adenosin trifosfat (ATP) untuk memulai proses fiksasi nitrogen. Elektron yang dihasilkan secara *in vivo* baik secara oksidatif atau fotosintetik. Siklus oksidasi-reduksi dimulai ketika elektron ini ditransfer ke flavodoxin atau ferredoxin yang mentransfer elektronnya ke protein Fe dari nitrogenase. Dua molekul ATP terikat pada Fe protein yang tereduksi dan dihidrolisis untuk menghasilkan elektron yang akan ditransfer ke protein FeMo. Proses reduksi molekul N₂ terjadi pada protein FeMo melalui beberapa tahapan reaksi. Transfer elektron terjadi sebanyak enam kali pada setiap molekul N₂ yang difiksasi. Oleh karena itu total ATP yang dibutuhkan untuk mereduksi 1 molekul N₂ yaitu 12 ATP, akan tetapi nitrogenase juga mereduksi proton menjadi H₂. Reaksi tersebut menggunakan dua elektron, sehingga diperlukan 8 elektron yang ditransfer dan 16 MgATPs yang dihidrolisis. Hidrolisis adenosin trifosfat (ATP), transfer elektron dan reduksi substrat merupakan hal yang sangat penting dalam proses reduksi gas dinitrogen (N₂) (Cheng 2008).

Menurut Cheng (2008), hidrolisis ATP berperan untuk mengontrol transfer elektron antara komponen protein. Transfer elektron dari protein Fe ke protein MoFe bertujuan untuk menghidrolisis MgATP dan diikuti oleh disosiasi kompleks protein-protein. Proses transfer elektron dari protein Fe kepada protein MoFe ini sangat penting, karena protein MoFe tidak dapat mereduksi N₂ tanpa adanya protein Fe (Gambar 1).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

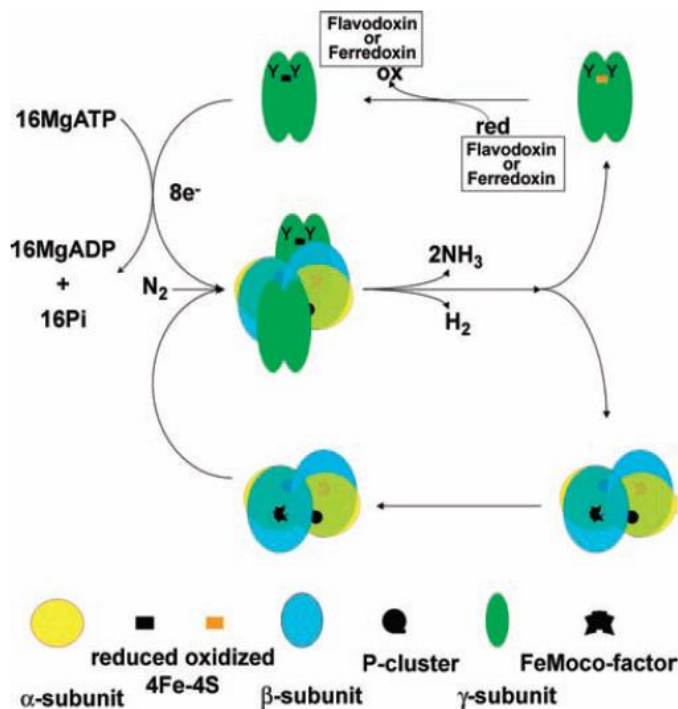
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hak cipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Gambar 1 Reduksi N_2 menjadi NH_3 . Reduksi N_2 melibatkan protein MoFe ($\alpha_2\beta_2$ hetero-tetramer) dan protein Fe (γ_2 homodimer). Proses reduksi N_2 terjadi pada protein MoFe dengan bantuan elektron dan ATP. Enam elektron dibutuhkan per molekul N_2 dan dua elektron dibutuhkan untuk mereduksi proton menjadi H_2 (Cheng 2008).

Enzim nitrogenase merupakan enzim yang diekspresikan ketika N_2 merupakan sumber nitrogen satu-satunya, karena gen yang menyandikan fiksasi nitrogen dihambat oleh sumber nitrogen yang disuplai secara eksogen seperti amonia (White 2000). Kompleks enzim nitrogenase sangat sensitif terhadap molekul oksigen (O_2) dan menjadi tidak aktif dengan adanya molekul ini (Zehr *et al.* 2003). Gen yang berperan mengekspresikan kemampuan fiksasi nitrogen (*nif*) telah dikaji dengan baik pada *Klebsiella pneumoniae*, sehingga regulasi gen-gen *nif* pada mikroba ini dijadikan model yang sangat baik untuk mempelajari proses fiksasi nitrogen pada mikroba yang mampu menambat nitrogen (Cheng 2008).

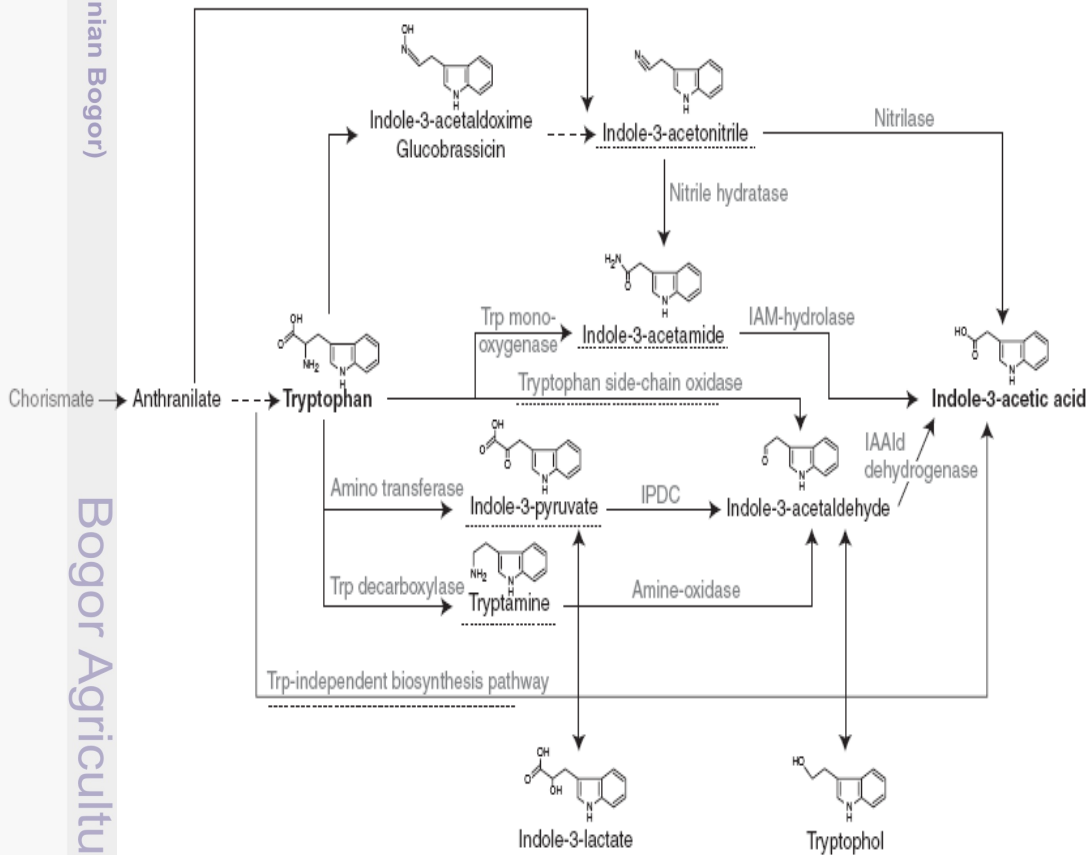
Regulasi gen-gen *nif* pada *K. pneumoniae* diatur oleh operon *nifLA*. Protein NtrC mengaktifkan transkripsi operon *nifLA* di bawah kondisi nitrogen yang terbatas. Protein *nifA* merupakan regulator positif yang berperan sebagai faktor yang dibutuhkan untuk transkripsi gen *nif*. Produk gen *nifL* berpengaruh dengan protein *nifA* untuk mencegah aktivasi *nifA* ketika tersedianya produk fiksasi nitrogen (amonia atau asam amino) atau oksigen (Schmitz *et al.* 2002). Fungsi *nifZ*, *W*, *U*, *S*, *X*, dan *T* masih belum diketahui secara jelas. Akan tetapi, ada bukti yang menyatakan bahwa produk gen *nifW* dan *nifZ* terlibat dalam proses salah satu komponen nitrogenase dan produk gen *nifX* merupakan regulator positif pada regulasi *nif* ketika merespon adanya asam amino dan oksigen (Moat *et al.* 2002). Fragmen spesifik gen *nifD* dan *nifH* dari *K. pneumoniae* merupakan gen-gen yang memiliki sekuens yang konservatif pada semua mikroba pemfiksasi

nitrogen (Kaminski *et al.* 1998). Gen *nifH* sering digunakan sebagai penanda molekuler suatu mikrob yang dapat memfiksasi nitrogen.

Indole Acetic Acid (IAA)

Fitohormon merupakan regulator penting bagi pertumbuhan tanaman yang mengendalikan berbagai proses seperti pembelahan sel, diferensiasi sel, organogenesis dan morfogenesis (Bielach *et al.* 2012). Fitohormon auksin disintesis oleh semua tanaman tingkat tinggi. IAA berfungsi merangsang pertumbuhan akar seperti inisiasi dan perkembangan akar lateral, gravitropisme dan pemanjangan akar. Fitohormon ini banyak ditemukan pada embrio benih dan jaringan meristematik yang aktif tumbuh seperti tunas tanaman dan ujung akar (Grunewald *et al.* 2009).

Secara alami tanaman mampu mensintesis fitohormon seperti auksin untuk pertumbuhannya. Selain itu, tanaman juga dapat memperoleh auksin dari mikrob tanah atau yang bersimbiosis dengan tanaman tersebut. Hormon IAA disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan. Biosintesis IAA oleh bakteri, dapat ditingkatkan dengan penambahan L-triptofan sebagai prekursor ke dalam media tumbuh bakteri (Gambar 2).



Gambar 2 Jalur biosintesis *Indole Acetic Acid* pada bakteri menurut Shapaepen *et al.* (2007)

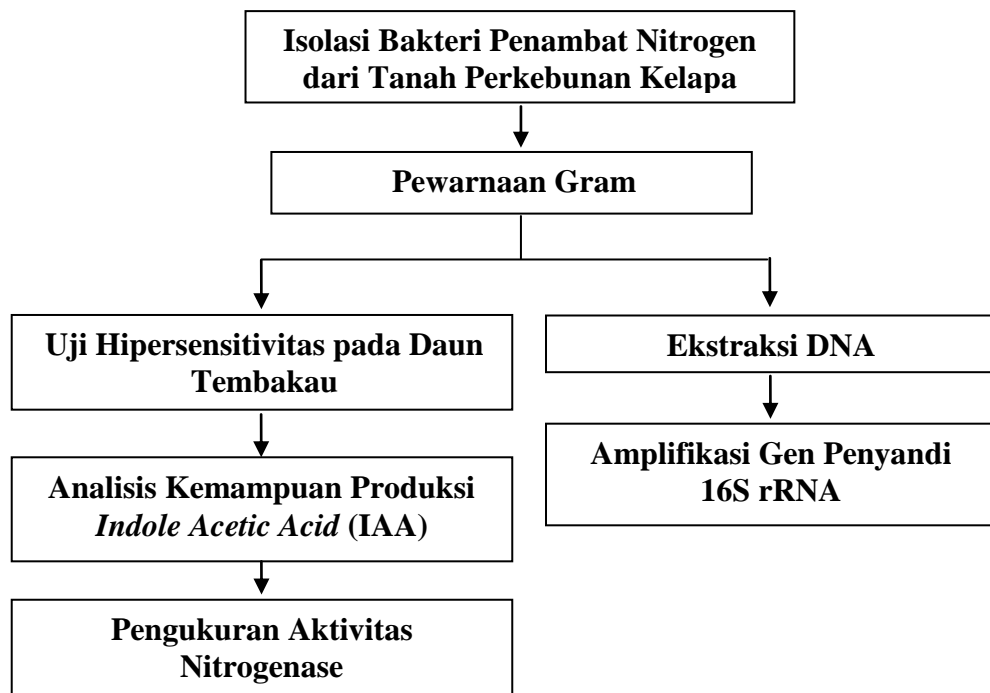
BAHAN DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini ialah 10 sampel tanah yang berasal dari daerah rhizosfer perkebunan kelapa sawit, Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi. Daun tembakau berumur 2 bulan yang diperoleh dari Balai Besar Penelitian Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen), Bogor. Isolat bakteri *Pseudomonas syringae* koleksi Dr Iman Rusmana, MSi.

Kerangka Penelitian

Kerangka penelitian ini meliputi isolasi bakteri penambat nitrogen, identifikasi berdasarkan gen penyandi 16S rRNA, pengujian reaksi hipersensitifitas pada daun tembakau, kemampuan dalam memproduksi *Indole Acetic Acid* (IAA), dan pengukuran aktivitas nitrogenase dengan menggunakan gas kromatografi (Gambar 3).



Gambar 3 Diagram alur penelitian

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2013 hingga September 2014 di Laboratorium Mikrobiologi, Departemen Biologi, FMIPA IPB.

Isolasi Bakteri Penambat Nitrogen dari Tanah

Medium yang digunakan untuk mengisolasi bakteri penambat nitrogen ialah LG dengan komposisi sukrosa 20 g, K_2HPO_4 0.0150 g; KH_2PO_4 0.0150 g; $CaCl_2$ 0.0190 g; Mg_3SO_4 0.2090 g; Na_2MOO_4 0.002 g; $FeCl_2$ 0.0192 g; $CaCO_3$ 0.10 g; agar-agar 15 g; dilarutkan dalam 1000 mL akuades; dan 2 mL larutan *Bromolthymole blue* (Aquilanti *et al.* 2004). Sebanyak 10 g sampel tanah disuspensikan dalam 90 mL larutan garam fisiologis ($NaCl$ 0.85%). Suspensi bakteri diencerkan secara serial hingga pengenceran 10^{-5} . Sebanyak 0.1 mL suspensi bakteri dari pengenceran 10^{-3} hingga 10^{-5} diinokulasikan dengan metode cawan sebar pada media LG, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 3 sampai 7 hari. Koloni bakteri yang tumbuh dimurnikan dengan metode gores kuadran hingga diperoleh koloni bakteri tunggal. Isolat murni yang diperoleh diremajakan pada media agar-agar miring LG dan disimpan sebagai stok dan untuk uji berikutnya seperti pewarnaan Gram, uji fisiologi, identifikasi gen penyandi 16S rRNA, uji hipersensitivitas pada daun tembakau, analisis Indole Acetic Acid (IAA), aktivitas nitrogenase dan kurva pertumbuhan .

Ekstraksi DNA

Isolat ditumbuhkan pada medium *Nutrient Broth* (NB) selama 24 jam pada suhu $30^{\circ}C$. Proses ekstraksi DNA mengikuti prosedur Presto™ Mini gDNA Kit (GeneAid) (Lampiran 1). Hasil ekstraksi DNA diukur konsentrasi dan kemurniannya dengan menggunakan NanoDrop 2000 spectrophotometer (Thermo Scientific, Wilmington, DE, USA).

Amplifikasi Gen 16S rRNA

DNA genom hasil ekstraksi yang diperoleh digunakan untuk mengamplifikasi gen 16S rRNA. Amplifikasi gen 16S rRNA menggunakan mesin *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dengan primer 63F ($5'$ -CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC- $3'$) dan 1387R ($5'$ -GGG CGG WGT GTA CAA GGC- $3'$) (Marchesi *et al.* 1998). Volume reaksi PCR yang digunakan sebanyak 25 μ L yang terdiri atas 12,5 μ L of GoTag Green Master Mix 2X (Promega, Madison, WI, USA); 2,5 μ L primer 63F dan 1387R (konsentrasi 10 pmol); 6,5 μ L *Nuclease Free Water* dan 1 μ L DNA genom sebagai template. Kondisi mesin PCR yang digunakan yaitu *pre-denaturation* ($95^{\circ}C$ selama 5 menit), *annealing* ($55^{\circ}C$ selama 1 menit), *elongation* ($72^{\circ}C$ selama 1.5 menit), dan *extension* ($72^{\circ}C$ selama 10 menit) sebanyak 30 siklus. Produk hasil PCR divisualisasi dengan menggunakan mesin elektroforesis pada 1 % (w/v) gel agarosa (Lampiran 2) dengan tegangan 80 Volt selama 45 menit. Visualisasi DNA dilakukan di atas UV transiluminator menggunakan pewarna Ethidium Bromida (EtBr).

DNA hasil amplifikasi disekuon pada jasa *sequencing*. Sekuen urutan basa nukleotida kemudian disejajarkan dengan data *GeneBank* menggunakan program BLAST-N (*Basic Aligment Search Tool-Nucleotide*) pada situs online NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Konstruksi pohon

filogenetik dilakukan dengan menggunakan program MEGA 5.05 dengan metode *Neighbour Joining* (NJ) dengan bootsrap 1000x.

Uji Hipersensitivitas pada Daun Tembakau

Uji hipersensitivitas dilakukan pada daun tembakau (*Nicotiana tabacum* L.) berumur 2 bulan. Isolat bakteri uji ditumbuhkan pada medium LG cair (10^7 sel/mL) selama 2 hari pada suhu 30 °C. Bakteri *Pseudomonas syringae* dijadikan sebagai kontrol positif sedangkan untuk kontrol negatif digunakan air steril dan media steril. Sebanyak 1 mL dari masing-masing kultur bakteri uji, kontrol positif dan kontrol negatif diambil dengan menggunakan alat penyuntik steril tanpa jarum kemudian setiap perlakuan disuntikan ke permukaan bawah daun tembakau secara perlahan. Gejala atau reaksi hipersensitif ditunjukkan dengan adanya perubahan warna daun tembakau pada daerah penyuntikan. Pengujian ini dilakukan sebanyak dua kali. Pengamatan gejala penyakit dilakukan hingga 48 jam setelah penyuntikan.

Analisis Kemampuan Produksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Pengukuran *Indole Acetic Acid* dilakukan dengan metode Patten dan Glick (2002). Isolat ditumbuhkan pada 100 mL medium LG cair yang ditambah dengan 1.0 mM L-triptofan dan tanpa penambahan triptofan, pengujian ini dilakukan sebanyak dua kali ulangan dan diinkubasi pada inkubator goyang dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30 °C. Sebanyak 1.5 mL kultur disentrifugasi pada sentrifus merek Eppendorf (24 x 3.75 g) selama 10 menit dengan kecepatan 8.000 rpm. 1 mL Supernatan yang diperoleh ditambahkan dengan 4 mL reagen Salkowski (150 mL H₂SO₄, 250 mL akuades steril dan 7.5 mL FeCl₃·6H₂O 0.5 M) kemudian campuran larutan diinkubasi pada ruangan gelap selama 15 menit. Perubahan warna sampel menjadi merah muda setelah inkubasi 15 menit mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Konsentrasi IAA dihitung setelah dibandingkan dengan absorbansi larutan standar IAA.

Pengukuran Aktivitas Nitrogenase

Pengukuran aktivitas nitrogenase dilakukan dengan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA) menggunakan alat kromatografi gas (Gibson and Turner 1980) merek HITACHI 263-70. Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium LG semisolid pada tabung berukuran 10 mL kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 30 °C (Bergersen 1970). Setelah diinkubasi selama 5 hari tabung ditutup dengan *rubber stopper* (penyumbat karet) dan kertas parafilm. Pengukuran ARA dilakukan dengan cara mengeluarkan udara yang ada pada tabung menggunakan alat suntik steril sebanyak 1 mL, kemudian gas asetilen (C₂H₂) diinjeksikan ke dalam tabung dengan volume yang sama dengan volume udara yang dikeluarkan

sebelumnya (sebanyak 1 mL). Setelah diinkubasi selama 2 jam, gas etilen diukur dengan alat kromatografi gas.

Kurva Tumbuh

Sebanyak 2 lup isolat bakteri terpilih ditumbuhkan di media *Nutrient Broth* (NB) dan LG cair yang ditambahkan 1.0 mM L-triptofan. Kultur yang ditumbuhkan pada medium NB diinkubasi selama 18 jam dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30 °C sedangkan kultur yang ditumbuhkan dengan medium LG ditumbuhkan selama 48 hari dengan kecepatan 100 rpm pada suhu 30 °C. Selanjutnya 1% (10^8 sel/ml) inokulum diinokulasikan ke dalam Erlenmeyer 250 mL yang berisi media NB dan LG 100 ml sebagai media produksi, kemudian ditambah dengan 1.0 mM L-triptofan dan diinkubasi pada suhu 30 °C dengan kecepatan 100 rpm. Kultur yang ditumbuhkan pada medium NB diambil sebanyak 3 mL untuk diukur densitas selnya pada panjang gelombang 600 nm setiap 3 jam selama 42 jam lalu dibandingkan dengan kurva standar sel. Kultur sel yang ditumbuhkan pada medium LG diambil 1 mL kultur sel setiap 24 jam selama 10 hari untuk dilakukan perhitungan dengan metode *Total Plate Count* (TPC). Kultur sel yang sama dari masing-masing media kemudian digunakan untuk tahapan analisis IAA. Sebanyak 1.5 mL kultur disentrifugasi pada sentrifus merek Eppendorf (24 x 3.75 g) selama 10 menit dengan kecepatan 8.000 rpm. 1 mL Supernatan yang diperoleh ditambahkan dengan 4 mL reagen Salkowski (150 mL H_2SO_4 , 250 mL akuades steril dan 7.5 mL $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.5 M) kemudian campuran larutan diinkubasi pada ruangan gelap selama 15 menit. Perubahan warna sampel menjadi merah muda setelah inkubasi 15 menit mengindikasikan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat diukur dengan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 520 nm. Konsentrasi IAA dihitung setelah dibandingkan dengan absorbansi larutan standar IAA.

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

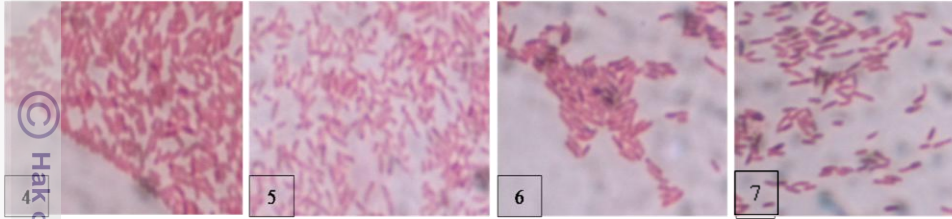
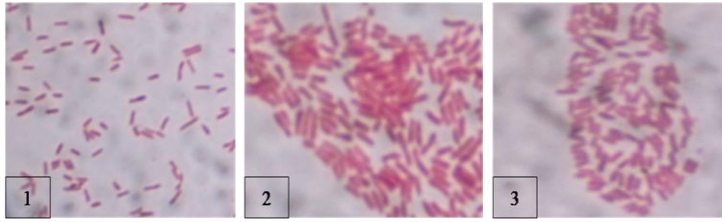
Isolasi dan identifikasi bakteri penambat nitrogen

Isolasi dari 10 sampel tanah rhizosfer asal perkebunan kelapa sawit di sekitar Taman Nasional Bukit Dua Belas, Jambi menghasilkan 7 isolat bakteri yang diberi kode ITJ.2, ITJ.3, ITJ.4, ITJ.5, ITJ.6, ITJ.7, dan IT.9 (Tabel 1). Ketujuh isolat mampu tumbuh pada medium selektif LG yang tidak mengandung unsur nitrogen. Koloni bakteri berbentuk bulat, berwarna bening atau transparan sampai putih keruh (Tabel 1). Permukaannya cembung, berlendir, dan tepiannya rata (Lampiran 2). Pewarnaan Gram digunakan untuk menentukan kelompok bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif yang didasarkan pada komposisi dan struktur kimiawi dinding selnya. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa ketujuh isolat bakteri yang diperoleh termasuk ke dalam Gram negatif (berwarna merah) dengan bentuk sel batang (Gambar 4).

Isolat bakteri penambat nitrogen selanjutnya diuji biokimia. Uji biokimia didasarkan pada berbagai hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim pada analisis ini dilakukan dua uji yaitu uji pembentukan cincin indol dan degradasi urea untuk menyeleksi isolat bakteri. Hasil uji indol menunjukkan bahwa semua isolat bakteri penambat nitrogen mampu membentuk indol yang ditunjukkan adanya cincin merah setelah direaksikan dengan reagen Kovac. Uji indol merupakan uji untuk melihat apakah isolat mampu menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA). Uji urea menunjukkan bahwa lima isolat bakteri dapat mendegradasi urea. Hal ini ditunjukkan dengan reaksi positif berupa adanya perubahan larutan menjadi merah muda setelah diinkubasi selama 48 jam. Dua isolat lainnya menunjukkan reaksi negatif (Lampiran 3). Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat mampu untuk mendegradasi urea.

Tabel 1 Morfologi isolat bakteri penambat nitrogen asal tanah perkebunan kelapa sawit di Jambi

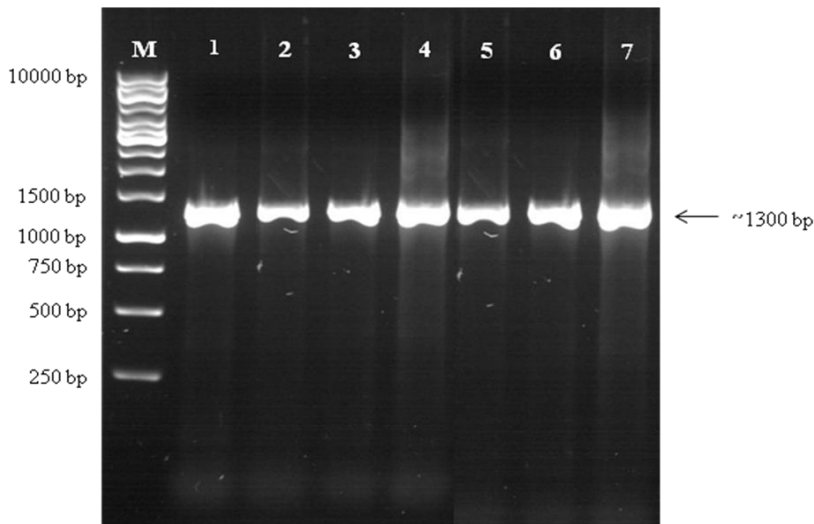
Kode isolat	Morfologi			
	Bentuk koloni	Warna	Bentuk sel	Gram
ITJ.2	Bulat	Transparan	Batang	Negatif
ITJ.3	Bulat	Putih susu	Batang	Negatif
ITJ.4	Bulat	Putih keruh	Batang	Negatif
ITJ.5	Bulat	Putih susu	Batang	Negatif
ITJ.6	Bulat	Putih keruh	Batang	Negatif
ITJ.7	Bulat	Transparan	Batang	Negatif
ITJ.9	Bulat	Transparan	Batang	Negatif



Gambar 4 Hasil pewarnaan Gram isolat bakteri penambat nitrogen. Keterangan 1) isolat ITJ.2; 2) isolat ITJ.3; 3) isolat ITJ.4; 4) isolat ITJ.5; 5) isolat ITJ.6; 6) isolat ITJ.7; dan 7) isolat ITJ.9

Identifikasi, analisis bioinformatika dan konstruksi pohon filogenetik

Hasil pengukuran konsentrasi dan kemurnian DNA genom menunjukkan bahwa konsentrasi DNA genom bakteri yang diperoleh berkisar 58.3-180.1 ng/ μ L. DNA genom tersebut dijadikan cetakan (*template*) pada proses PCR gen pengkode 16S rRNA. Hasil visualisasi amplifikasi gen penyandi 16S rRNA pada gel agarosa 1% menghasilkan produk pita DNA berukuran \sim 1300 pb (Gambar 5). Analisis sekuen gen penyandi 16S rRNA dengan data di *GeneBank* pada program BLAST-N menunjukkan bahwa tiga isolat termasuk ke dalam genus *Beijerinckia*, satu isolat masing-masing termasuk ke dalam genus *Rhizobium*, *Ensifer*, *Caulobacter* dan *Microbacterium* (Tabel 2).



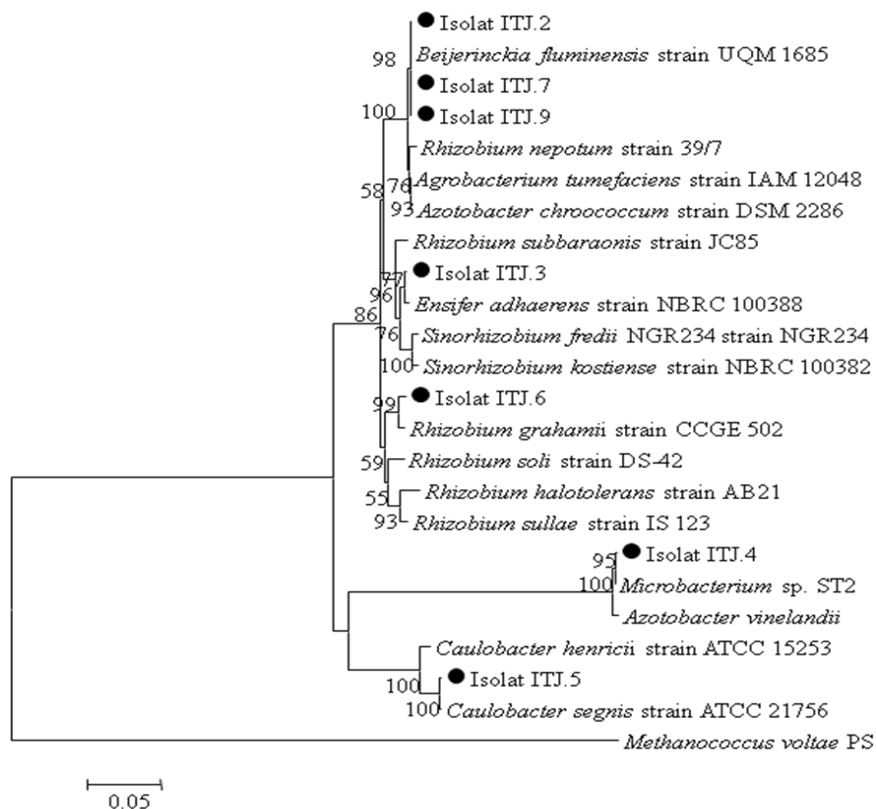
Gambar 5 Visualisasi hasil elektroforesis amplifikasi gen 16S rRNA pada gel agarosa 1% (\sim 1300 pb). Keterangan M: Marker 1 kb; sumur 1) ITJ.2, 2) ITJ.3, 3) ITJ.4, 4) ITJ.5, 5) ITJ.6, 6) ITJ.7, dan 7) ITJ.9

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Konstruksi pohon filogenetik dilakukan untuk mengetahui kelompok dan hubungan kekerabatan isolat. Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat ITJ.2, ITJ.7, dan ITJ.9 berada dalam satu kelompok dan hubungannya sangat dekat dengan *Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685. ITJ.3 berkelompok dengan *Ensifer adhaerens* galur NBRC 100388, isolat ITJ.4 hubungannya sangat dekat dengan *Microbacterium* sp. galur ST2, isolat ITJ.5 dekat dengan *Caulobacter segnis* galur ATCC 21756 dan isolat ITJ.6 dekat dengan *Rhizobium grahamii* galur CCGE 502 (Gambar 6).

Tabel 2 Analisis homologi sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri penambat nitrogen menggunakan program BLAST-N

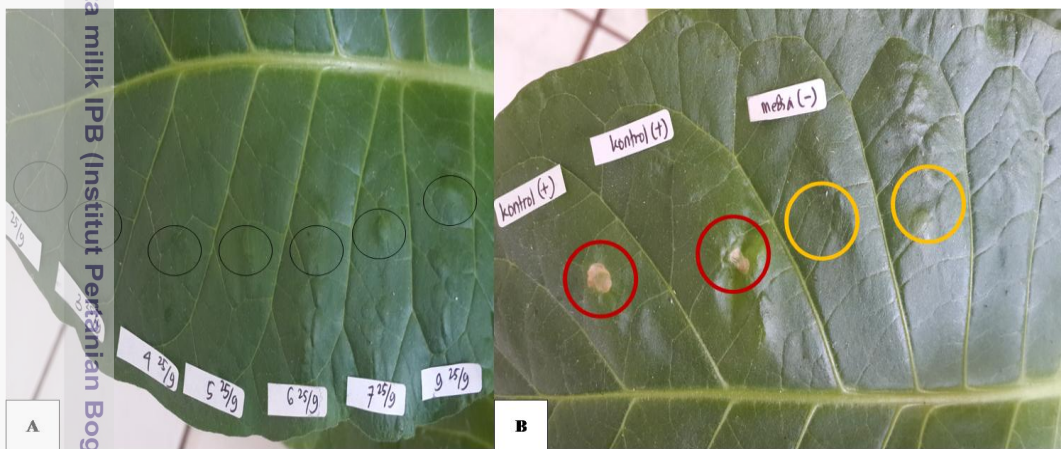
Kode isolat	Homologi	% Identitas	E- Value	No akses
ITJ.2	<i>Beijerinckia fluminensis</i> galur UQM 1685	100	0.0	NR 116306.1
ITJ.3	<i>Ensifer adhaerens</i> galur NBRC 100388	99	0.0	NR 113893.1
ITJ.4	<i>Microbacterium</i> sp. galur ST2	99	0.0	NR 044937.1
ITJ.5	<i>Caulobacter segnis</i> galur ATCC 21756	99	0.0	NR 074208.1
ITJ.6	<i>Rhizobium grahamii</i> galur CCGE 502	98	0.0	NR 118140.1
ITJ.7	<i>Beijerinckia fluminensis</i> galur UQM 1685	99	0.0	NR 116306.1
ITJ.9	<i>Beijerinckia fluminensis</i> galur UQM 1685	100	0.0	NR 116306.1



Gambar 6 Konstruksi pohon filogenetik isolat bakteri penambat nitrogen menggunakan metode *Neighbour Joining* dengan nilai ulangan bootstrap 1000 x

Uji hipersensitivitas pada daun tembakau

Hasil dari uji hipersensitivitas menunjukkan bahwa semua isolat tidak dapat menginduksi reaksi hipersensitif pada daun tembakau. Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya bercak warna kuning atau coklat pada daerah daun yang disuntik dengan isolat bakteri ITJ.2, ITJ.3, ITJ.4, ITJ.5, ITJ.6, ITJ.7, dan ITJ.9 (Gambar 7A). Reaksi hipersensitif positif ditunjukkan oleh daerah daun yang disuntik dengan bakteri *Pseudomonas syringae* (Gambar 7B). Bakteri ini mampu menginduksi reaksi hipersensitif pada daun tembakau yang ditunjukkan dengan adanya bercak kuning pada daerah penyuntikan. Reaksi hipersensitif negatif juga ditunjukkan oleh daun yang disuntik dengan akuades dan media LG steril (Gambar 7B).

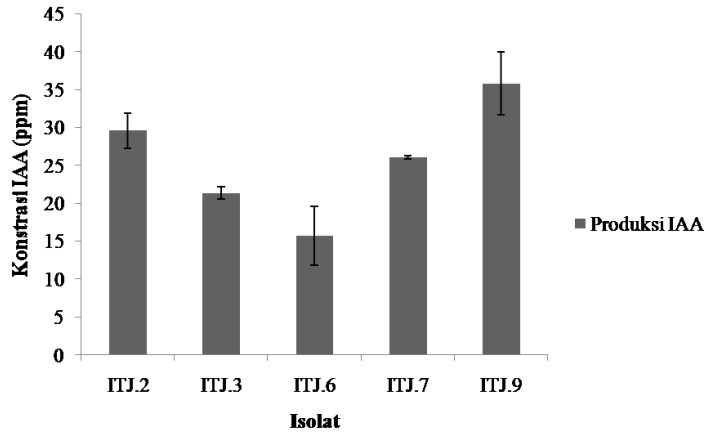


Gambar 7 Hasil pengamatan uji hipersensitivitas pada daun tembakau. Keterangan: A) daun tembakau yang disuntik dengan isolat bakteri. B) daun yang disuntik dengan bakteri *Pseudomonas syringae* sebagai kontrol positif (lingkaran berwarna merah), dan daun tembakau yang disuntik dengan akuades dan media steril sebagai kontrol negatif (lingkaran berwarna kuning)

Analisis kemampuan produksi *Indole Acetic Acid* (IAA)

Isolat yang terpilih ITJ.2, ITJ.3, ITJ.6, ITJ.7, dan ITJ.9 (berdasarkan hasil identifikasi 16S rRNA yang tergolong ke dalam kelompok bakteri penambat nitrogen, menunjukkan hasil positif pada uji indol dan urea) mampu tumbuh pada medium LG yang ditambahkan dengan 1.0 mM L-triptofan. Seluruh isolat dapat mensintesis IAA. Hasil positif terlihat dengan perubahan warna kultur isolat menjadi warna merah muda ketika direaksikan dengan reagen Salkowski. Kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan IAA selama 10 hari pengamatan berbeda-beda, hal ini ditunjukkan dari konsentrasi IAA yang dihasilkan (Gambar 8). Isolat ITJ.2 menghasilkan IAA dengan konsentrasi sebesar 29.562 ppm, ITJ.3 sebesar 21.355 ppm, ITJ.6 sebesar 15.714 ppm, ITJ.7 sebesar 26.032 ppm, dan ITJ.9 sebesar 35.793 ppm. Semua isolat uji yang ditumbuhkan pada medium LG tanpa penambahan triptofan sebagai kontrol menunjukkan hasil

negatif IAA (tidak ada perubahan warna kultur menjadi merah muda). Hal ini mengindikasikan bahwa semua isolat tidak dapat mensintesis IAA pada medium yang tidak ditambahkan triptofan.



Gambar 8 Konsentrasi *Indole Acetic Acid* (IAA) yang dihasilkan isolat bakteri penambat nitrogen pada medium LG yang ditambahkan L-triptofan 1.0 mM selama 10 hari

Pengukuran aktivitas nitrogenase

Hasil pengukuran aktivitas nitrogenase menunjukkan bahwa 2 dari 5 isolat terpilih yaitu ITJ.2 dan ITJ.7 dapat mereduksi gas asetilen menjadi etilen dengan konsentrasi gas etilen masing-masing sebesar 0.094 dan 0.092 ppm/jam. Sedangkan 3 isolat lainnya yaitu, ITJ.3, ITJ.6, dan, ITJ.9 tidak dapat mereduksi gas asetilen menjadi etilen (Tabel 3).

Tabel 3 Hasil pengukuran kemampuan aktivitas nitrogenase

Kode Isolat	Konsentrasi Etilen (ppm/jam)
ITJ.2	0.094
ITJ.3	0
ITJ.6	0
ITJ.7	0.092
ITJ.9	*

Keterangan *: terukur tetapi sangat kecil

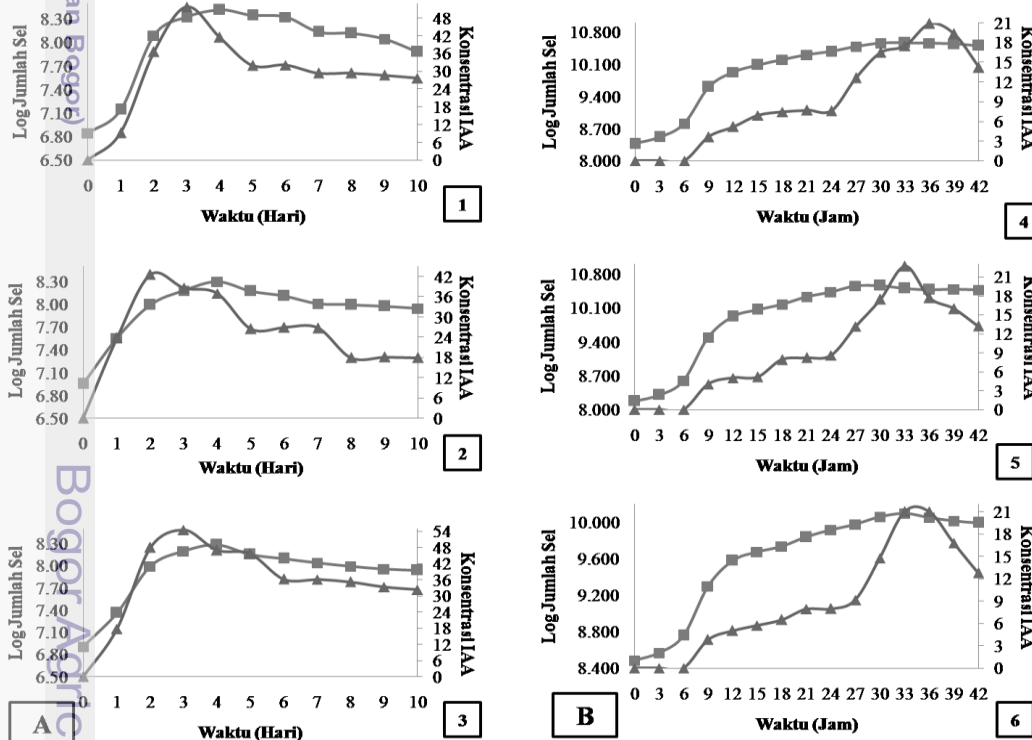
Kurva pertumbuhan

Berdasarkan hasil pengukuran produksi IAA dan aktivitas nitrogenase, dipilihlah tiga isolat yaitu ITJ.2, ITJ.7, dan, ITJ.9 untuk dilakukan kurva pertumbuhan. Pembuatan kurva tumbuh dilakukan pada dua medium yang berbeda yaitu medium LG dan NB. Kedua medium tersebut ditambahkan dengan L-triptofan dengan konsentrasi 1.0 mM. Hasil pengukuran kurva pertumbuhan ketiga isolat terpilih dapat tumbuh pada medium NB dan LG yang ditambahkan

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

dengan L-triptofan. Isolat ITJ.2 pada medium NB mulai mengalami peningkatan jumlah sel pada 0-24 jam setelah inkubasi sedangkan pada medium LG jumlah sel isolat mulai mengalami peningkatan pada hari ke-1 sampai ke-4 hari inkubasi. Jumlah sel isolat ITJ.2 pada medium NB cenderung stabil hingga 42 jam inkubasi sedangkan mengalami penurunan dihari ke-5 inkubasi pada medium LG. Isolat ITJ.7 dan ITJ.9 pada medium NB mengalami peningkatan jumlah sel pada jam ke 0 sampai 24 jam inkubasi. Jumlah sel isolat ITJ.7 dan ITJ.9 yang ditumbuhkan pada medium LG mengalami peningkatan dihari ke-4 inkubasi. Pertumbuhan jumlah sel kedua isolat cenderung stabil hingga 42 jam inkubasi pada medium NB sedangkan pada medium LG mengalami penurunan dihari ke-5 inkubasi (Gambar 9).

Indole Acetic Acid (IAA) mulai dihasilkan oleh ketiga isolat pada jam ke-9 inkubasi di medium NB dan produksi IAA terus mengalami peningkatan sampai jam ke-36 inkubasi. Pada medium LG IAA mulai dihasilkan pada hari pertama inkubasi dan mengalami peningkatan sampai hari ke-3 inkubasi. Produksi IAA oleh ketiga isolat yang ditumbuhkan dengan medium NB mulai mengalami penurunan pada jam ke-39 inkubasi sedangkan produksi IAA pada medium LG mengalami penurunan setelah hari ke-4 inkubasi. Produksi IAA optimum pada medium pertumbuhan LG dihasilkan pada hari ke-2 (isolat ITJ.2) inkubasi dan hari ke-4 inkubasi (ITJ.7 dan ITJ.9), sedangkan pada medium pertumbuhan NB produksi IAA optimum dihasilkan pada jam ke-36 (isolat ITJ.2), dan k3-33 inkubasi (ITJ.7 dan ITJ.9) (Gambar 9).



Gambar 9 Kurva pertumbuhan isolat ITJ.2, ITJ.7, dan ITJ.9. Keterangan A) pertumbuhan isolat uji pada medium LG dan B) pertumbuhan isolat pada medium NB. Simbol ■ menunjukkan jumlah sel isolat dan simbol ▲ menunjukkan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat.

Pembahasan

Nitrogen merupakan unsur pembatas bagi pertumbuhan tanaman sehingga, kandungan nitrogen di tanah sangat berhubungan erat dengan tingkat kesuburan dan produktivitas tanaman. Peningkatan kadar nitrogen ditanah juga dipengaruhi oleh mikroba yang mampu memfiksasi nitrogen, dengan cara menambat nitrogen bebas dan mengkonversinya dalam bentuk amonium yang bisa digunakan oleh tanaman. Menurut Farina *et al.* (2012) mikroba penambat N memiliki peranan penting bagi ketersediaannya unsur nitrogen di dalam tanah bagi tanaman. Isolasi bakteri penambat nitrogen dilakukan dari 10 sampel tanah rhizosfer asal perkebunan kelapa sawit dan didapatkan 7 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada medium LG yang tidak mengandung unsur nitrogen. Menurut Beneduzi *et al.* (2008) jumlah kelimpahan mikroba di rhizosfer dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti morfologi akar, tahap pertumbuhan tanaman, eksudat akar dan sifat fisik dan kimia tanah. Rhizosfer merupakan daerah yang ideal bagi pertumbuhan mikroba tanah karena, pada daerah tersebut sangat kaya akan nutrisi seperti asam amino dan gula. Senyawa tersebut berfungsi sebagai sumber nitrogen dan karbon untuk pertumbuhan mikroba. Kemampuan isolat bakteri untuk tumbuh pada media bebas nitrogen mengindikasikan kemampuannya dalam menambat N_2 bebas di udara. Nitrogen merupakan nutrisi esensial yang diperlukan oleh mikroba untuk mensintesis asam amino untuk penyusunan protein sel mikroba (White 2000).

Uji biokimia bakteri penambat nitrogen dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada medium differensial. Medium diferensial digunakan untuk membedakan kelompok mikroorganisme dari sifat morfologi dan biokimianya. Medium pertumbuhan ini dilengkapi campuran bahan kimia, sehingga setelah inkubasi dan inkubasi, menghasilkan perubahan karakteristik pada penampakan pertumbuhan bakteri dan atau pada medium sekitar koloni yang menyebabkan perbedaan. Pembentukan indol (cincin merah) dapat diketahui dengan penambahan reagen Kovac. Reagen ini mengandung dimetilaminobenzaldehid yang akan bereaksi dengan dimetilaminobenzaldehid sehingga membentuk rosindol yang berwarna merah (cincin merah) (Talaroo dan Chess 2012).

Uji urea dilakukan untuk menentukan kemampuan mikroba uji dalam mendegradasi urea oleh enzim urease. Urease adalah enzim hidrolitik yang memecah nitrogen dan ikatan karbon dalam senyawa amida seperti urea kemudian membentuk produk akhir amonia yang bersifat basa. Kehadiran urease terdeteksi ketika mikroba uji dapat tumbuh di medium urea cair yang mengandung fenol sebagai indikator pH. Urea sebagai substrat dipecah menjadi produk yaitu amonia. Keberadaan amonia akan membuat lingkungan menjadi basa sehingga indikator fenol akan merubah warna medium menjadi merah muda. Reaksi positif ini menunjukkan bahwa isolat atau mikroba mempunyai enzim urease. Reaksi negatif pada uji ini ditunjukkan dengan tidak adanya perubahan warna pada medium tumbuh (Cappuccino dan Sherman 2005).

Identifikasi isolat bakteri penambat nitrogen asal tanah perkebunan kelapa sawit di Jambi menggunakan teknik molekuler berdasarkan gen 16S rRNA. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat ITJ.2, ITJ.7, dan, ITJ.9 kekerabatannya dekat dengan *Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685 dengan indeks kesamaan 100%, isolat ITJ.3 kekerabatannya dekat dengan *Ensifer adhaerens* galur NBRC 100388 dengan indeks kesamaan 99%, isolat ITJ.4 kekerabatannya dekat dengan

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Microbacterium sp. galur ST2 dengan indeks kesamaan 99%, isolat ITJ.5 kekerabatannya dekat dengan *Caulobacter segnis* galur ATCC 21756 dengan indeks kesamaan 99%, dan isolat ITJ.6 kekerabatannya dekat dengan *Rhizobium grahamii* galur CCGE 502 dengan indeks kesamaan 98%.

Genus *Beijerinckia* merupakan mikroba tanah penambat nitrogen dan bersifat aerob (Kumar 2014). Isolat ITJ.3 berkerabat dekat dengan *Ensifer adhaerens* galur NBRC 100388. *Rhizobium* dan *Sinorhizobium* merupakan bakteri penambat nitrogen, Gram negatif bakteri dan hidup bersimbiosis dengan tanaman legume dengan cara membentuk bintil akar (MacLean *et al.* 2007; Murray 2011). Bintil akar merupakan suatu tempat khusus dimana berlangsungnya proses perubahan gas dinitrogen (N_2) menjadi amonia (NH_3) yang berguna bagi pertumbuhan tanaman (Brencic dan Winans 2005).

Analisis bioinformatika menunjukkan bahwa pada penelitian ini ditemukan isolat bakteri yang bukan kelompok penambat nitrogen yaitu, *Microbacterium* sp. (isolat ITJ.4) dan *Caulobacter segnis* galur ATCC 21756 (isolat ITJ.5). Hal ini didukung oleh Arruda *et al.* (2013), melaporkan bahwa bakteri seperti *Microbacterium* sp. yang tidak termasuk ke dalam golongan penambat nitrogen dapat tumbuh pada medium selektif yang tidak mengandung unsur N seperti NFB dan LG. Pepe *et al.* (2013) juga berhasil mengisolasi beberapa bakteri yang bukan penambat nitrogen tetapi mampu tumbuh pada medium LG seperti *Stenotrophomonas*, *Xantomonas*, *Pseudomonas*, *Achromobacter* dan *Caulobacter*. Beberapa bakteri non-diazotrof mampu tumbuh pada medium yang tidak mengandung unsur nitrogen, karena bakteri tersebut bersifat oligotrof atau menggunakan nitrogen hasil fiksasi bakteri diazotrof selama proses pengayaan (Beneduzi *et al.* 2013).

Isolat bakteri penambat nitrogen tidak menunjukkan gejala hipersensitif pada daun tembakau. Hal ini menunjukkan bahwa keseluruhan isolat tidak bersifat patogen sehingga dapat dilakukan uji selanjutnya. Hipersensitif positif ditunjukkan dengan adanya bercak kuning atau coklat daun. Reaksi ini biasanya menyebabkan kematian sebagian sel inang yang bertujuan untuk menghambat pertumbuhan patogen (Lindsay *et al.* 1993).

Nitrogenase merupakan enzim penting yang berperan dalam mereduksi nitrogen bebas (N_2) menjadi amonium (NH_3). Proses perubahan ini memerlukan energi yang besar dan sangat sensitif terhadap oksigen (O_2). Kompleks nitrogenase mengandung dua protein yang terpisah. Komponen 1 (dinitrogenase) merupakan komponen yang terdiri atas empat sub unit 240 kDa yang disandikan oleh gen *nifD* dan *nifK*. Kofaktor besi-molibdenum (FeMo-co) dari dinitrogenase disintesis oleh beberapa gen *nif* (*nif Q, B, V, N, E*). Komponen 2 (dinitrogenase reduktase, disandikan oleh gen *nifH*) merupakan protein yang terdiri atas 2 subunit 60 kDa. Protein ini mengandung kluster besi-belerang (Fe_4S_4) pada bagian tengahnya (Kim dan Rees 1994; Moat *et al.* 2002; Zehr *et al.* 2003). Aktivitas enzim nitrogenase diukur dengan menggunakan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA) atau reduksi gas asetilen (Gibson dan Turner 1980; Hardy *et al.* 1968). Hasil yang didapatkan dua dari tiga isolat bakteri yaitu, isolat ITJ.2 dan ITJ.7 (*Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685) mampu mereduksi gas asetilen menjadi etilen dengan konsentrasi 0.094 ppm dan 0.092 ppm sedangkan tiga isolat bakteri lainnya tidak mampu mereduksi gas asetilen menjadi etilen (Tabel 2).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Pengukuran aktivitas nitrogenase isolat ITJ.3 dan ITJ.6 tidak menunjukkan adanya reduksi asetilen menjadi etilen. Isolat ITJ.3 dan ITJ.6 tergolong ke dalam mikrob penambat nitrogen yang hidupnya bersimbiosis dengan inang sehingga diduga tidak terdeteksi aktivitas nitrogenasenya. Aktivitas nitrogenase isolat ITJ.9 menghasilkan puncak yang sangat kecil pada hasil kromatogram sehingga sulit untuk dihitung konsentrasi gas etilen yang dihasilkan. Aktivitas nitrogenase isolat ITJ.9 sangat kecil sekali sehingga tidak mampu dideteksi oleh gas kromatografi. Menurut Franche *et al.* (2009) mayoritas bakteri penambat nitrogen yang hidupnya bersimbiosis seperti rhizobia sulit untuk menggunakan nitrogen di luar inangnya sehingga sukar untuk diukur aktivitas nitrogenasenya dengan menggunakan metode ARA. Metode ARA banyak digunakan untuk mengukur aktivitas nitrogenase, karena caranya yang sederhana, cepat dan relatif murah tetapi metode ini tidak mampu mendeteksi konsentrasi gas yang sangat kecil (Lay dan Hastowo 1992). Aktivitas nitrogenase menggunakan metode ini dihitung berdasarkan jumlah reduksi gas asetilen (C_2H_2) menjadi gas etilen (C_2H_4). Kemampuan mereduksi gas asetilen menjadi etilen merupakan indikator untuk pengukuran aktivitas enzim nitrogenase (Andrade *et al.* 1997).

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) selain dapat mereduksi nitrogen bebas menjadi amonium juga mampu menghasilkan zat pengatur tumbuh atau fitohormon. Kemampuan bakteri untuk menghasilkan senyawa fitohormon merupakan mekanisme penting pada PGPR. Senyawa ini berperan sebagai sinyal dan regulator pertumbuhan pada tumbuhan, seperti *Indole Acetic Acid* (IAA), giberelin dan sitokinin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat mampu menghasilkan IAA yang ditunjukkan dengan perubahan warna larutan supernatan menjadi merah muda setelah ditambahkan dengan reagen Salkowski dan diinkubasi selama 15 menit. Menurut Thuler *et al.* (2003), selain menambat nitrogen bebas di udara *Beijerinckia dextrii* juga menghasilkan atau memproduksi faktor yang dapat membantu pertumbuhan tanaman seperti IAA. Faktor pertumbuhan seperti IAA juga dapat disintesis oleh genus *Rhizobium* dan *Sinorhizobium* (Chan *et al.* 2012; Tubb 1976).

Produksi IAA oleh isolat uji mulai terlihat pada jam ke-9 dan hari pertama inkubasi dan semakin meningkat ketika memasuki fase stasioner dimana jumlah sel cenderung stabil atau mengalami penurunan. IAA merupakan salah satu metabolit sekunder yang dihasilkan pada fase stasioner (Spaepen *et al.* 2007; Wahyudi *et al.* 2011). Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat mampu menghasilkan IAA ketika medium pertumbuhannya ditambahkan dengan triptofan sedangkan pada perlakuan medium tanpa penambahan triptofan semua isolat tidak menghasilkan IAA. Hal ini menunjukkan bahwa penambahan triptofan pada medium pertumbuhan merupakan faktor penting bagi isolat untuk biosintesis IAA. Triptofan merupakan prekursor biosintesis IAA pada bakteri melalui jalur *Indole-3-Pyruvate Acid* (IPA) (Patten dan Glick 2002). Penelitian Nadeem *et al.* (2012) melaporkan bahwa isolat rhizobakteria yang berasosiasi dengan tanaman alpukat hanya mampu memproduksi IAA ketika medium pertumbuhannya ditambahkan dengan L-triptofan. Ahmad *et al.* (2008) juga melaporkan isolat *Azotobacter*, *Pseudomonas* dan *Bacillus* tidak mampu menghasilkan IAA pada medium tanpa penambahan L-triptofan. *Indole Pyruvic Decarboxilase* (IPDC) merupakan enzim penting dalam biosintesis IAA dan aktivitasnya tergantung dari ekspresi gen

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
- b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

IPDC. Secara alami triptofan yang digunakan oleh mikroba diperoleh dari eksudat akar (Nadeem *et al.* 2012; Spaepen *et al.* 2007).

Kemampuan masing-masing isolat dalam menghasilkan IAA berbeda-beda. Hal ini ditunjukkan dari bervariasinya konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh masing-masing isolat dengan kisaran 15.714 ppm sampai dengan 35.793 ppm. Konsentrasi IAA yang dihasilkan berbeda-beda walaupun isolat termasuk ke dalam genus yang sama. Beneduzi *et al.* (2013) melaporkan *Burkholderia*, *Agrobacterium*, dan *Stenotrophomonas* walaupun termasuk ke dalam satu genus yang sama akan tetapi kemampuan dalam memproduksi IAA berbeda-beda pada medium kultur cair. Penelitian Kavamura *et al.* (2013) juga melaporkan bahwa beberapa galur *Bacillus* yang termasuk genus *Bacillus* mampu mensintesis IAA dengan jumlah yang bervariasi dalam medium cair. Menurut Mirza *et al.* (2001) kemampuan bakteri PGPR dalam menghasilkan IAA berbeda-beda tiap spesies dan galur, dan hal ini juga dipengaruhi oleh kondisi kultur, fase pertumbuhan, dan ketersediaan substrat.

Senyawa fitohormon IAA merupakan zat pengatur tumbuh yang berperan dalam proses patogenesis atau pertumbuhan tanaman. IAA yang dihasilkan oleh mikroba yang berada di rhizosfer dapat meningkatkan rambut akar, ukuran, dan jumlah akar adventif tanaman (Ribeiro dan Cardoso 2012), sehingga dapat meningkatkan kapasitas eksplorasi akar untuk menyerap nutrisi (Castro *et al.* 2009). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa beberapa isolat mampu memfiksasi nitrogen dan menghasilkan zat pengatur tumbuh (fitohormon). Mikroba PGPR mampu membantu pertumbuhan tanaman dengan mekanisme yang berbeda seperti menghasilkan fitohormon atau zat pengatur tumbuh, fiksasi nitrogen atau *Biological Nitrogen Fixation* (BNF), pelarut fosfat, dan memproduksi siderofor. PGPR dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman dengan menggunakan satu atau lebih mekanisme (Glick 2005).

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkannya dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Dari 10 sampel tanah dari perkebunan kelapa sawit sekitar Taman Nasional Bukit Dua Belas di Jambi diperoleh 7 isolat bakteri penambat nitrogen. Hasil konstruksi pohon filogenetik menunjukkan bahwa isolat ITJ.2, ITJ.7, dan ITJ.9 mempunyai kemiripan 100% dengan *Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685. Isolat ITJ.3 memiliki kemiripan 99% dengan *Ensifer adhaerens* galur NBRC 10038. Isolat ITJ.4 memiliki kemiripan 99% dengan *Microbacterium* sp. galur ST2. Isolat ITJ.5 memiliki kemiripan 99% dengan *Caulobacter segnis* galur ATCC 21756 dan isolat ITJ.6 memiliki kemiripan 96% dengan *Rhizobium grahamii* galur CCGE 502. Lima isolat terpilih mampu menghasilkan *Indole Acetic Acid* (IAA) pada media pertumbuhan yang mengandung triptofan 1 mM dan tidak menunjukkan gejala hipersensitif pada daun tembakau. Dua dari lima isolat bakteri penambat nitrogen yaitu isolat ITJ.2 dan ITJ.7 mampu mereduksi gas asetilen menjadi etilen dengan konsentrasi 0.094 ppm dan 0.092 ppm.

Saran

Perlu dilakukan analisis lebih lanjut mengenai kemampuan isolat uji dalam menghasilkan zat pemacu tumbuh IAA. Perlu dilakukan pengujian secara *in vivo* pada pembibitan kelapa sawit untuk mengamati kemampuannya dalam menambat nitrogen dan memacu pertumbuhan bibit kelapa sawit sehingga dapat diketahui pengaruh yang dihasilkan oleh isolat bakteri.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad F, Ahmad I, Khan MS. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiol Res.* 163: 173-181.
- Andrade G, Esteban E, Velasco L, Lorite MJ, Bedmar EJ. 1997. Isolation and identification of N₂-fixing microorganisms from the rhizosphere of *Capparis spinosa* (L). *Plant Soil.* 197(1):19-23.
- Arruda L, Beneduzi A, Martins A, Lisboa B, Lopes C, Bertolo F, Passaglia LMP, Vargas LK. 2013. Screening of rhizobacteria from maize (*Zea mays* L.) in Rio Grande do Sul State (South Brazil) and analysis of their potential to improve plant growth. *Appl Soil Ecol.* 63: 15-22.
- Aquilanti L, Favilli F, Clementi F. 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biol Biochem.* 36(9): 1475-1483.
- Bielach A, Duclercq J, Marhavy P, Benkova E. 2012. Genetic approach towards the identification of auxin-cytokinin crosstalk components involved in root development. *Phil Trans Royal Soc.* 367:1469-1487.
- Beneduzi A, Peres D, Costa PB, Zanettini MHB, Passaglia LMP. 2008. Genetic and phenotypic diversity of plant-growth-promoting bacilli isolated from wheat fields in southern Brazil. *Res Microbiol.* 159:244-250.
- Beneduzi A, Moreira F, Costa PB, Vargas LK, Lisboa BB, Favreto R, Baldani JJ, Passaglia LMP. 2013. Diversity and plant growth promoting evaluation abilities of bacteria isolated from sugarcane cultivated in South of Brazil. *Appl Soil Ecol.* 63:94-104.
- Bergersen PJ. 1970. The quantitative relationship between nitrogenase fixation and the acetylene-reduction assay. *Aust J Biol Sci.* 23(5):1015-1025.
- Brencic A, Winans SC. 2005. Detection of response to signal involved in host-microbe interaction by plant-associated bacteria. *Microbiol Molec Biol Rev.* 69(1):155-194.
- Cappuccino JG, Sherman N. 2005. *Microbiology A Laboratory Manual.* Ed ke-7. New York (US): Person Benjamin Cummings.
- Castro RO, Cornejo HAC, Rodriguez LM, Bucio JL. 2009. The role of microbial signals in plant growth and development. *Plant Signal Behav.* 4(8):701-712.
- Chan WX, Ming ZY, Yun JC, Li MC, De ZZ, Liang M, Yun TS, Han BZ. 2012. Changes in non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria inhabiting rhizosphere soils of an invasive plant *Ageratina adenophora*. *Appl Soil Ecol.* 54(1):32-38.
- Cheng Q. 2008. Perspectives in biological nitrogen fixation research. *J Integr Plant Biol.* 50 (7):784-796.
- Farina R, Beneduzi A, Ambrosini A, de Campos SB, Lisboa BB, Wendisch V, Vargas LK, Passaglia LMP. 2012. Diversity of plant growth-promoting rhizobacteria communities associated with the stage of canola growth. *Appl Soil Ecol.* 55:44-52.
- Franche C, Lindstrom K, Elmerich C. 2009. Nitrogen-fixing bacteria associated with leguminous and non-leguminous plants. *Plant Soil.* 321:35-59.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Gibson AH, Turner GL. 1980. Measurement of Nitrogen Fixation by Indirect Means. Di dalam : Bergensen FJ, editor. *Methods for Evaluating Biological Nitrogen Fixation*. New York (US): John Willey & Sons. hlm 111-138.
- Glick BR. 2005. Modulation of plant ethylene level by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiol Lett*. 251(1):1-7.
- Grunewald W, Van Noorden G, Van Isterdael G, Beeckman T, Gheysen G, Mathesius U. 2009. Manipulation of auxin transport in plant roots during *Rhizobium* symbiosis and nematode parasitism. *Plant Cell*. 21:2553-2562.
- Hanafiah KA, Anas I, Napoleon A, Ghoffar N. 2006. *Biologi Tanah Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Jakarta (ID): Raja Grafindo Persada.
- Hardy RWF, Holsten RD, Jackson EK, Burns RC. 1968. The acetylene-ethylene assay for N₂ fixation: laboratory and field evaluation. *Plant Physiol*. 43(8):1185-1207.
- Hasibuan ZH, Sabrina T, Sembiring MB. 2012. Potensi bakteri *Azotobacter* dan hijauan *Mucuna bracteata* dalam meningkatkan hara nitrogen kompos tandan kosong kelapa sawit. *Agroekoteknologi*. 1(1): 237-253.
- Hayatsu M. 2014. A novel fuction of controlled-release nitrogen fertilizer. *Microbes Environ*. 29(2):121-122.
- Kavamura VN, Santos SN, da Silva JL, Parma MM, Avila LA, Visconti A, Zucchi TD, Taketani RG, Andreote FD, de Melo IS. 2013. Screening of Brazilian cacti rhizobacteria for plant growth promotion under drought. *Microbial Res*. 168:183-191.
- Kaminski PA, Batut J, Boistard P. 1998. A survey of symbiotic nitrogen fixation by rhizobia. Di dalam: *The Rhizobiaceae, molecular biology of model plant associated bacteria*. Sapaink HP, Kondorosi A, Hooykaas PJJ, editor. Inggris (GB): Kluwer Academic.
- Kim J, Rees DC. 1994. Nitrogenase and biological nitrogen fixation. *Biochemistry*. 33(2):389-396.
- Kumar M. 2014. Bacteria involving in nitrogen fixation and their evolutionary correlation. *Int J Curr Microbiol App Sci*. 3(3):842-830.
- Kloepper JW, Lifshitz R, Zablutowicz RM. 1989. Free-living bacterial inocula for enhancing crop productivity. *Trends Biotechnol*. 7:39-43.
- Laskar F, Sharma GD. 2013. Isolation and characterisation of diazotrophic bacteria from rhizosphere of different rice cultivar of South Assam, India. *Curr World Environ*. 8(1):157-163.
- Lay BW, Hastowo S. 1992. *Mikrobiologi*. Jakarta (ID): Rajawali Pers.
- Li L, Li Z, Hu C, Zhang X, Chang S, Yang L, Li Y, An Q. 2012. Plant growth-promoting nitrogen-fixing enterobacteria are in association with sugarcane plants growing in Ghuangxi, China. *Microbiol Environ*. 27(4):391-398.
- Lindsay WP, Lamb CJ, Dixon RA. 1993. Microbial recognition and activation of plant defence system. *Trends Microbiol*. 5(1):181-187.
- MacLean AM, Finan TM, Sadowsky MJ. 2007. Genome of the symbiotic nitrogenfixing bacteria of legume. *Plant Physiol*. 144:615-622.
- Marchesi JR, Sato T, Weightman AJ, Martin TA, Fry JC, Hiom SJ, Wade WG. 1998. Design and evaluation of useful bacterium-specific PCR primer that amplify genes coding for bacterial 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol*. 64(2):796-799.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Mirza MS, Ahmad W, Latif F, Haurat J, Bally R, Normand P, Malik KA. 2001. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane *in vitro*. *Plant Soil*. 237:47-54.
- Moat AG, Foster JW, Spector MP. 2002. *Microbial Physiology*. New York (US): Wiley-Liss, Inc.
- Murray JD. 2011. Invasion by Invitation: rhizobial infection in legumes. *Mol Plant Microbe Interact*. 24(6):631-639.
- Nadeem SM, Shaharoon B, Arshad M, Crowley DE. 2012. Population density and functional diversity of plant growth promoting rhizobacteria associated with avocado trees in saline soils. *Appl Soil Ecol*. 62:147-154.
- Pepe O, Ventorino V, Blaiotta G. 2013. Dynamic of functional microbial groups during mesophilic composting of agro-industrial waste and free living (N₂)-fixing bacteria application. *Waste Man*. 33:1616-1625.
- Perez PG, Ye J, Wang S, Wang X, Huang D. 2014. Analysis of the occurrence and activity of diazotrophic communities in organic and conventional horticultural soils. *Appl Soil Ecol*. 79(1):37-48.
- Patten CL, Glick BR. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole-acetic acid in development of the host plant root system. *Appl Environ Microbiol*. 68(8):3795-3801.
- Razie F, Iswandi A. 2005. Potensi *Azotobacter* spp. dari lahan pasang surut Kalimantan Selatan dalam menghasilkan Indole Acetic Acid (IAA). *J Tanah Lingk*. 7(1): 35-39.
- Ribeiro CM, Cardoso EJBN. 2012. Isolation, selection and characterization of root-associated growth promoting bacteria in Brazil pine (*Araucaria angustifolia*). *Microbiol Res*. 167(10):60-78.
- Richardson AE, Barea JM, McNeill M, Combaret CP. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant Soil*. 321:305-339.
- Schmitz RA, Klopffrogge K, Grabbe R. 2002. Regulation of nitrogen fixation in *Klebsiella pneumoniae* and *Azotobacter vinelandii*: NifL, transducing two environmental signals to the *nif* transcriptional activator NifA. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 4(3):235-242.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev*. 31(4):425-448.
- Suliasih, Widawati S. 2005. Isolation and identification of phosphate solubilizing and nitrogen fixing bacteria from soil in Wamena Biological Garden, Jayawijaya, Papua. *Biodiversitas*. 6(5):175-177.
- Talaroo. K.P. and Chess. B. 2012. *Foundation In Microbiology*. Ed ke-8. New York (US): Mc Graw Hill
- Tejera N, Lluch C, Toledo MVM, Lopez JG. 2005. Isolation and characterization of *Azotobacter* and *Azospirillum* strains from sugarcane rhizosphere. *Plant Soil*. 270(1):223-232.
- Thuler DS, Floh EIS, Handro W, Barbosa HR. 2003. *Beijerinckia dextrii* releases plant growth regulator and amino acids in synthetic media independent of nitrogenase activity. *J Appl Microbiol*. 95(4):799-806.
- Tubb RS. 1976. Regulation of nitrogen fixation in *Rhizobium* sp. *Appl Environ Microbiol*. 32(4):483-488.

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.

b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



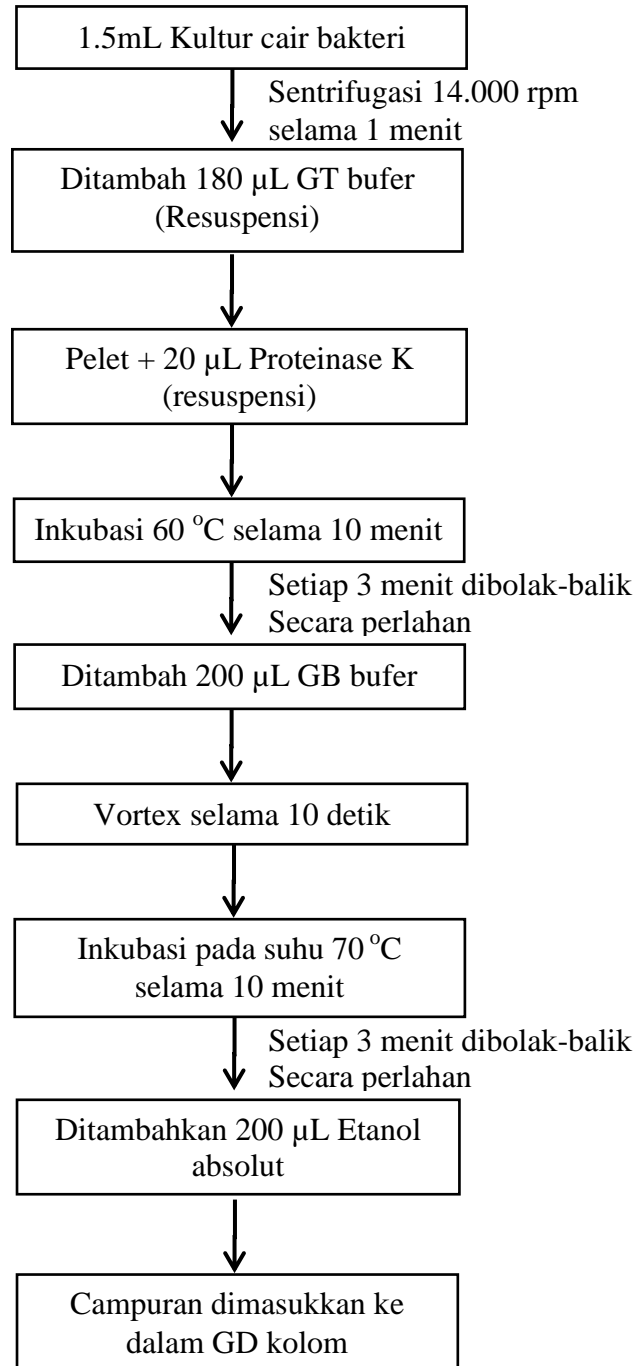
Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

- Wahyudi AT, Astuti RP, Widyawati A, Meryandini A, Nawangsih AA. 2011. Characterization of *Bacillus* sp. strains isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *J Microbiol and Antimicrob.* 3(2): 34-40.
- Widiastuti H, Siswanto, Suharyanto, (2010). Karakterisasi dan seleksi beberapa isolat *Azotobacter* sp. untuk meningkatkan perkecambahan benih dan pertumbuhan tanaman. *Bul. Plasma Nut.*16(2):160-167.
- White D. 2000. *The Physiology and Biochemistry of Prokariotes*. Ed ke-2. London (GB): Oxford University Press.
- Zehr JP, Jenkins BD, Short SM, Steward GF. 2003. Nitrogenase gene diversity and microbial community structure: a cross-system comparison. *Environ Microbiol.* 5(7): 539-554.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Prosedur Isolasi DNA Genom Presto™ Mini gDNA Kit (Geneaid)

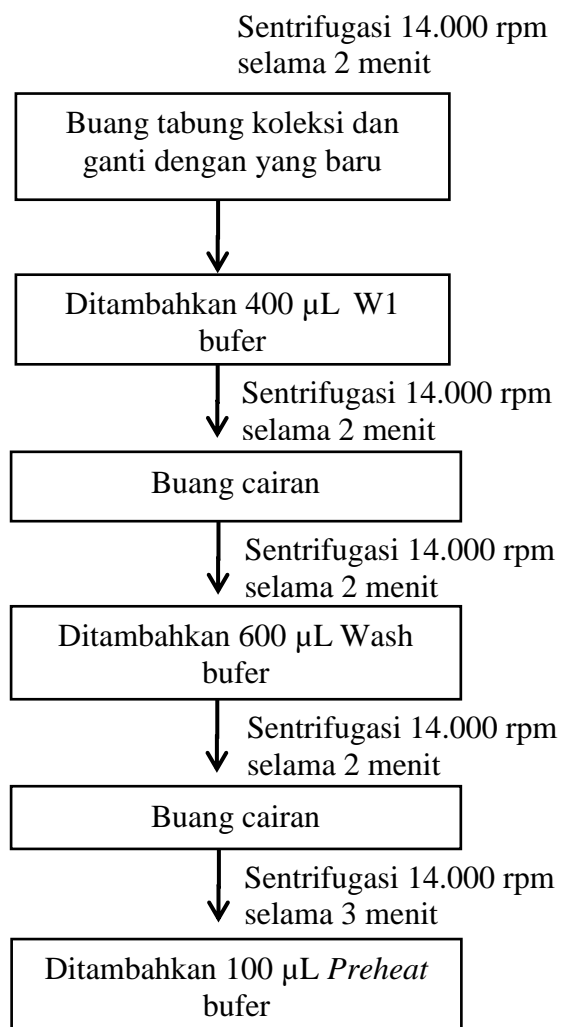


1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:

a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.

2. Dilarang mengumbar dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

(Lanjutan Lampiran 1)



Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



Lampiran 2 Karakteristik morfologi bakteri penambat nitrogen yang diisolasi dari rhizosper tanah perkebunan kelapa sawit di Jambi

Kode isolat	Morfologi Koloni						Bentuk sel	Pewarnaan Gram
	Bentuk	Warna	Elevasi	Tepi	Densitas	Diameter (mm)		
IJ.2	Bulat	Transparan	Cembung	Rata	Translue	0.4 mm	Batang	Negatif
IJ.3	Bulat	Putih susu	Cembung	Tidak beraturan	Keruh	0.2 mm	Batang	Negatif
IJ.4	Bulat	Putih keruh	Cembung	Rata	Keruh	0.2 mm	Batang	Negatif
IJ.5	Bulat	Putih susu	Cembung	Rata	Keruh	0.3 mm	Batang	Negatif
IJ.6	Bulat	Putih keruh	Cembung	Rata	Keruh	0.5 mm	Batang	Negatif
IJ.7	Bulat	Transparan	Cembung	Rata	Translue	0.4 mm	Batang	Negatif
IJ.9	Bulat	Transparan	Cembung	Rata	Translue	0.4 mm	Batang	Negatif

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
- a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 3 Hasil uji biokimia isolat penambat nitrogen

No	Kode isolat	Uji Biokimia						
		Indole	Urea	Sitrat	MR	VP	PRGB	TSIA
1	ITJ.2	+	+	+	-	-	+	+
2	ITJ.3	+	+	+	-	-	+	+
3	ITJ.4	+	+	-	-	-	-	-
4	ITJ.5	+	-	+	-	-	+	+
5	ITJ.6	+	-	+	-	-	+	+
6	ITJ.7	+	+	+	-	-	+	+
7	ITJ.9	+	+	+	-	-	+	+

Keterangan : + (positif), - (negatif), MR: Methyl Red, VP:, PRGB: Phenol Red Glucose Broth, TSIA: Triple Sugar Iron Agar

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

© Hakcipta milik IPB (Institut Pertanian Bogor)

Bogor Agricultural University

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 4 Sekuen isolat ITJ.2

GCGTG GGAACATAACCCTTTCCTGCGGAATAGCTCCGGGAAACTGGAAT
TAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGGGAAGGATT
GGCCCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGC
GACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTG
AGACACGGCCCAAACCTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAAATATTGGA
CAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGC
CTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGGAGAAGATAATGACGGTATCCG
GAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGA
AGGGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGG
CGGATATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCAGAGCTCAACTCTGGAACTG
CCTTGATACTGGGTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGGAATTCCG
AGTGATAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGA
AGGGGGCTTACTGGTCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGG
GAGCAAACAGGATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGATGA
ATGATAGCCGTCGGGCAGTATACTGTTTCGGTGGCGCAGCTAACGCATT
AAACATTCGCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAAACTCAAAGGA
ATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAA
GCAAACGCGCAGAACCTTACCAGCTCTTGACATTCCGGGGTATGGGCATT
GGAGACGATGTCCTTCAGTTAGGCTGGCCCCAGAACAGGTGCTGCATG
GCTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCACAACGA
GCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGG
GGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTC
CTCAGGGGCCCTTACGGGCTTGGGTACACACGTGCTACAATGGTGGTG
ACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATGTCGAGCTAATCTCCAAAAGCCAT
CTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTTGGAATCG
CTAGTAATCGCAGATC

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 5 Sekuen isolat ITJ.3

AGTAACGCGTGGGAATCTACCCTTTTCTACGGAATAACGCAGGGAAAC
TTGTGCTAATACCGTATAAGCCCTTCGGGGGAAAGATTTATCGGGAAA
GGATGAGCCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCA
AGGCGACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGG
ACTGAGACACGGCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATAT
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGA
AGGCCCTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGGTGAAGATAATGACGGTA
ACCGGAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTCCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACG
TAGGCGGACATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCAGAGCTCAACTCTGG
AACTGCCTTTGATACTGGGTGTCTAGAGTATGGAAGAGGTGAGTGGAA
TCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTG
CCGAAGGCGGCTCACTGGTCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCG
GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG
ATGAATGTTAGCCGTCGGGCAGTTTACTGTTCCGGTGGCGCATCTAACG
ATTAAACATTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAACTCAA
AAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAAT
TCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCCCTTGACATCCCGATCGCGG
ATTACGGAGACGTTTTCCCTTCAGTTCGGCTGGATCGGAGACAGGTGCT
GCATGGCTGTCGTGAGCTCGTGTGCTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGC
ACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTC
TAAGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTC
AAGTCTCATGGCCCTTACGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGT
CGTGACAGTGGGCAGCGAGACCGCGAGGTCGAGCTAATCTCCAAAAG
CCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTTGGA
ATCGCTAGTAATCGCAGATCA

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 6 Sekuen isolat ITJ.4

CCTGCCCTGGACTCTGGGATAAGCGCTGGAAACGGTGTCTAATACTGG
ATATGAGCTCTCATCGCATGGTGGGGGTTGGAAAGATTTTTTCGGTCTG
GGATGGGCTCGCGGCTATCAGCTTGTGGTGGAGGTAATGGCTTACCA
AGGCGTCGACGGGTAGCCGGCCTGAGAGGGTGACCGGCCACACTGGG
ACTGAGACACGGCCCCAGACTCCTACGGGAGGCATCAGTGGGGAATA
TTGCACAATGGGCGGAAGCCTGATGCAGCAACGCCGCGTGAGGGATG
ACGGCCTTCGGGTTGTAAACCTCTTTTAGCAAGGAAGAAGCGAAAGTG
ACGGTACTTGCAGAAAAGCGCCGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGC
GGTAATACGTAGGGCGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAG
AGCTCGTAGGCGGTTTGTGCGCTCTGCTGTGAAAACCCGAGGCTCAAC
CTCGGGCCTGCAGTGGGTACGGGCAGACTAGAGTGCGGTAGGGGAGA
TTGGAATTCTGGTGTAGCGGTGGAATGCGCAGATATCAGGAGGAAC
ACCCATGGCGAAGGCAGATCTCTGGGCCGTAACCTGACGCTGAGGAGC
GAAAAGGGTGGGGAGCAAACAGGCTTAGATAACCTGGTAGTCCACCCC
GTAACGTTGGGAACTAGTTGTGGGGTCCCTTTCCACGGATTCCGTGAC
GCAGCTAACGCATTAAGTTCCCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCT
AAAACCTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGCGGAGCATGC
GGATTAATTCGATGCAACGCGAAGAACCTTACCAAGGCTTGACATACA
CGAGAACATCCCAGAAATGGGGGACTCTTTGGACACTCGTGAACAGG
TGGTGCATGGTTGTGTCGTCAGCTCGTGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTC
CCGGAACGAGCGCAACCCTCGTTCTATGTTGCCAGCACGTAATGGTGG
GAACTCATGGGATACTGCCGGGGTCAACTCGGAGGAAGGTGGGGATG
ACGTCAAATCATCATGCCCTTATGTCTTGGGCTTCACGCATGCTACA
ATGGCCGGTACAAAGGGCTGCAATACCGTGAGGTGGAGCGAATCCCA
AAAAGCCGGTCCCAGTTCGGATTGAGGTCTGCAACTCGACCTC

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 7 Sekuen isolat ITJ.5

GCCCTTTGGTTCGGAACAACCTCAGGGAACTTGAGCTAATACCGGATG
TGCCCTTCGGGGGAAAGATTTATCGCCATTGGAGCGGCCCGCTCTGA
TTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCGACGATCAGTAGCT
GGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCAAA
CTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATCTTGCGCAATGGGCGAAAGC
CTGACGCAGCCATGCCGCGTGAATGATGAAGGTCTTAGGATTGTAAAA
TTCTTTCACCGGGGACGATAATGACGGTACCCGGAGAAGAAGCCCCG
GCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTT
GCTCGGAATTACTGGGCGTAAAGGGAGCGTAGGCGGACTGTTAAGTT
AGAGGTGAAAGCCCAGGGCTCAACCTTGGAATTGCCTTTGATACTGGC
AGTCTTGAGTACGGAAGAGGTATGTGGAACCTCCGAGTGTAGAGGTGA
AATTCGTAGATATTCGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGACATACTG
TCCGTTACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGAT
AGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAGTGCTAGTTGTCCG
ATGCATGCATGTCCGGTGACGCAGCTAACGCATTAAGCACTCCGCCTG
GGAGTACGGTCCGAAGATTAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCC
CACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTGGAAGCAACGCGCAGAAC
TTACCACCTTTTGACATGCCTGGACCGCCACAGAGATGTGGTTTTCCC
TCGGGGACTGGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTC
TGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCGATTAG
TGCCATCAGGTTTGGCTGGGCACTCTAATCGTACTGCCGGAGTTAAT
CNGGAGGAAGGCGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACAAGG
GGGCTACACACGTGCTACAATGGCGACTACAGAGGGGCTGCAATCCC
CCGAGGGGGAGCCAATCCCTAAAAGTCGTCTCAGTTCGGATTGTTCTC
TGCAACTCGAGAGCATGAAG

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 8 Sekuen isolat ITJ.6

CGTACCCTTTTCTACGGAATAACCCAGGGAAACTTGGACTAATACCGTA
TGTGCCCTTCGGGGGAAAGATTTATCGGAAAAGGATCGGCCCGCGTTG
GATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATAG
CTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAA
ACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCAAGC
CTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTAGGGTTGTAAAG
CTCTTTCACCGGAGAAGATAATGACGGTATCCGGAGAAGAAGCCCCGG
CTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGCGTTGT
TCGGATTTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATCGATCAGTCAGG
GGTCAAATCCCAGAGCTCAACTCTGGAAGTGCCTTTGATACTGTTCGATC
TGGAGTATGGAAGAGGTGAGTGGAAATCCGAGTGTAGAGGTGAAATTC
GTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCACTGGTCCAT
TACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATAC
CCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAATGTTAGCCGTCGGGCAGTAT
ACTGTTTCGGTGGCGCAGCTAACGCATTAACATTCCGCCTGGGGAGTAC
GGTCCGAAGATTA AAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCG
GTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCC
CTTGACATGCCAAGCTACCTGCAGAGATGCAGGGTTCCTTCGGGGACT
TGGACACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGTGAGATGTTG
GGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTT
AGTGGGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTG
GGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTTACGGGCTGGGCTACACACGT
GCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATGTCGAGCTAA
TCTC AAAAGCCATCTCAGTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCAT
GAAGTTGGAATCGCTAGTAATC

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritikan atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumarkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 9 Sekuen isolat ITJ.7

AGTAACGCGTGGGAACATACCCTTTTCCTGCGGAATAGCTCCGGGAAAC
TGGAATTAATACCGCATAACGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGGGA
AGGATTGGCCCGCGTTGGATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACC
AAGGCGACGATCCATAGCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGG
GACTGAGACACGGCCAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGGAATA
TGGACAATGGGCGCAAGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGA
AGGCCTTAGGGTTGTAAAGCTCTTTCACCGGAGAAGATAATGACGGTA
TCCGGAGAAGAAGCCCCGGCTAACTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGAAGGGGGCTAGCGTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACG
TAGGCGGATATTTAAGTCAGGGGTGAAATCCCAGAGCTCAACTCTGGA
ACTGCCTTTGATACTGGGTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGGAAT
TCCGAGTGTAGAGGTGAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTG
CCGAAGGCGGCTTACTGGTCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGT
GGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACGA
TGAATGTTAGCCAGTCGGGCAGTATACTGTTTCGGTGGCGCAGCTAACG
CATTAAACATTCCGCCTGGGGAGTACGGTTCGCAAGATTAAACTCAA
CGAATTGACGGGGGCCCGCACAAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTC
CAAGCAACGCGCAGAACCTTACCAGCTCTTGACATTCGGGGTATGGGC
ATTGGAGACGATGTCCTTCAGTTAGGCTGGCCCCAGAACAGGTGCTGC
ATGGCTGTCGTCAGCTCGTGTCTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAA
GAGCGCAACCCTCGCCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTA
AGGGGACTGCCGGTGATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAA
GTCCTCATGGCCCTTACGGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGG
GACAGTGGGCAGCGAGACAGCGATGTCGAGCTAATCTCCAAAAGCC
ATCTCAGTTTCGGATTGCACTCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTTGGAAT
CGTAGTAATCGCAGATCA

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumunkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.

Lampiran 10 Sekuen isolat ITJ.9

TACCCTTTCCTGCGGAATAGCTCCGGGAAACTGGAATTAATACCGCAT
ACGCCCTACGGGGGAAAGATTTATCGGGGAAGGATTGGCCCGCGTTG
GATTAGCTAGTTGGTGGGGTAAAGGCCTACCAAGGCGACGATCCATA
GCTGGTCTGAGAGGATGATCAGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCC
AAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGCA
AGCCTGATCCAGCCATGCCGCGTGAGTGATGAAGGCCTTAGGGTTGTA
AAGCTCTTTCACCGGAGAAGATAATGACGGTATCCGGAGAAGAAGCC
CCGGTA ACTTTCGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGAAGGGGGCTAGC
GTTGTTTCGGAATTACTGGGCGTAAAGCGCACGTAGGCGGATATTTAAG
TCAGGGGTGAAATCCCAGAGCTCAACTCTGGA ACTGCCTTTGATACTG
GGTATCTTGAGTATGGAAGAGGTAAGTGG AATTCCGAGTGTAGAGGT
GAAATTCGTAGATATTCGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTTAC
TGGTCCATTACTGACGCTGAGGTGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGG
ATTAGATAACCCTGGTAGTCCACGCCGTAACGATGAATGTTAGCCGTC
GGGGAGTATACTGTTCCGGTGGCGCAGCTAACGCATTA AACATTCCGCC
TGGCGAGTACGGTCGCAAGATTA AAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGC
CCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT CGAAGCAACGCGCAGA
ACCTTACCAGCTCTTGACATTCGGGGTATGGGCATTGGAGACGATGTC
CTTCAGTTAGGCTGGCCCCAGAACAGGTGCTGCATGGCTGTCGTCAGC
TCGTGTCGTGAGATGTTGGGTAAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTCG
CCCTTAGTTGCCAGCATTTAGTTGGGCACTCTAAGGGGACTGCCGGTG
ATAAGCCGAGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAGTCCTCATGGCCCTT
ACGGCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGTGGTGACAGTGGGCAGC
GAGACAGCGATGTCGAGCTAATCTCCAAAAGCCATCTCAGTTCCGGATT
GCACCTGCAACTCGAGTGCATGAAGTTGGAATCGCTAG

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumbar dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.



RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Banda Aceh pada tanggal 21 Juli 1987 sebagai anak pertama dari tiga bersaudara dari pasangan ayah HZ. Abidin Harun dan ibu Nuraini. Pendidikan sarjana (S1) ditempuh di Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala, lulus pada tahun 2011. Penulis bekerja pada PT. CS2 Pola Sehat (Orang Tua Group Tbk.) sebagai Analis Mikrobiologi pada tahun 2011 hingga 2012. Pada tahun 2012, penulis diterima di Program Studi Mikrobiologi (MIK) pada Program Pascasarjana IPB dengan biaya sendiri.

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains (MSi), penulis melakukan penelitian dengan judul “Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil *Indole Acetic Acid* Dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit, Jambi”. Penelitian ini dibimbing oleh Dr Nisa Rachmania Mubarik, MSi dan Prof Dr Aris Tri Wahyudi, MSi. Penelitian ini telah disajikan pada *International Seminar of Indonesian Society for Microbiology 2014 (ISISM 2014)* di Padang, Sumatra Barat pada tanggal 17 Oktober 2014 dan terbit pada jurnal *International Journal of Environmental and Application Science (IJEAS)* dengan indeks Copernicus

Hak Cipta Dilindungi Undang-Undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber:
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah.
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPB.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPB.