

Abundance and potency of Non-Symbiotic Nitrogen-Fixing Bacteria in Padang Sapu-sapu, Pejem Village, Bangka

(Kelimpahan dan Potensi Bakteri Penambat N₂ Non-Simbiotik di Padang Sapu-Sapu Dusun Pejem, Bangka)

Hermiati^{1*}, Eddy Nurtjahya¹, Irdika Mansur²

¹Jurusan Biologi, Fakultas Pertanian, Perikanan dan Biologi, Universitas Bangka Belitung

Kampus Terpadu UBB Balun Ijuk, Kecamatan Merawang, Kabupaten Bangka, Provinsi Kepulauan Bangka Belitung 33172

²SEAMEO BIOTROP, Jl. Raya Tajur, RT.05/RW.05, Pakuan, Kecamatan Bogor Selatan, Kota Bogor, Jawa Barat 16134

ABSTRACT

Padang sapu-sapu soil is similar with post-tin mining soil in its white sand texture and poor nutrient. One factor causes the disturbed land in Bangka Belitung islands is tin mining activity. One method to rehabilitate marginal soil is by utilizing the potential non-symbiotic *N₂-fixing bacteria*, which are able to fertilize the soil and is able to provide macro nutrient. This study aims to measure the abundance and potency of non-symbiotic *N₂-fixing bacteria* in padang sapu-sapu, Pejem Village, Bangka. The site selection is determined by purposive sampling method and interviews and the samples were collected randomly. Isolation used selective media *Ashby's Monitol Agar* and *Azospirillum media*. Morphological characterization was conducted on isolates and a series selective test was carried out, i.e. hypersensitivity test, hemolysis test, IAA phytohormone test and nitrogenase test. The study of the abundance population of non-symbiotic *N₂-fixing bacteria* of two different locations showed that the total bacterial population in padang sapu-sapu is very small compared to its lowland forest. Isolate *Azotobacter* sp. TH105(a) from the lowland forests is potential as natural fertilizer.

Padang sapu-sapu memiliki kemiripan dengan lahan pasca penambangan timah pada karakteristik berpasir putih dan miskin hara. Salah satu penyebab keadaan kritis di Pulau Bangka Belitung adalah penambangan timah. Salah satu cara untuk menangani lahan kritis adalah memanfaatkan bakteri penambat N₂ *non-simbiotik*. Bakteri tersebut merupakan bakteri potensial untuk menyuburkan tanah dan menyediakan unsur hara makro. Penelitian ini bertujuan mendata kelimpahan dan potensi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* di lahan padang sapu-sapu, Dusun Pejem, Bangka. Lokasi penelitian dipilih dengan metode *purposive sampling* dan wawancara. Sampel tanah diambil dari padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah Dusun Pejem, Bangka secara acak. Isolasi dilakukan menggunakan media selektif *Ashby's Monitol Agar* dan *media Azospirillum*. Isolat yang diperoleh dicatat karakter morfologi dan dilakukan serangkaian uji selektif yakni uji hipersensitivitas, uji hemolisis, uji fitohormon IAA dan uji nitrogenase. Hasil penelitian kelimpahan populasi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* dari dua lokasi yang berbeda menunjukkan bahwa jumlah populasi di padang sapu-sapu sangat sedikit dibandingkan di hutan dataran rendah. Isolat *Azotobacter* sp. TH105 (a) dari dataran rendah berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati.

Keywords: abundance, potency, non-symbiotic *N₂-fixing bacteria*, padang sapu sapu, Bangka.

*)Corresponding author:
Hermiati
E-mail: hermiatisahid@gmail.com

PENDAHULUAN

Padang sapu-sapu merupakan vegetasi semak dengan pohon tertinggi hanya mencapai 5 meter [1]. Karakteristik tanah padang sapu-sapu yaitu berpasir

putih dan miskin hara sehingga memiliki kesamaan dengan lahan pasca penambangan timah [1], [2]. Hutan padang sapu-sapu memiliki total N sebesar 0,07-0,41 [2] Menurut Patti *et al.* [3] kandungan N total tanah yang rendah berkisar 0,06-0,17 termasuk lahan kritis.

Nitrogen (N) adalah salah satu unsur hara makro yang penting yang ketersediaannya terbatas bagi tanaman, ketersediaan N di dalam tanah relatif lebih rendah <2 dibandingkan dengan kandungan N di udara sangat berlimpah yaitu sekitar 80% dari total gas di udara, N dapat dimanfaatkan oleh tanaman dengan bantuan bakteri penambat N_2 (BPN), sehingga N dapat terikat kuat pada komponen tanah yang menyebabkan N tidak mudah terbilas keluar dari tanah dan dapat dimanfaatkan oleh tanaman [4].

Bakteri penambat N_2 non simbiotik memiliki kemampuan ganda yaitu sebagai agen penambatan N_2 bebas di udara sekaligus sebagai pemantap agregat tanah. Menurut Miharja [5], bakteri penambat N_2 non-simbiotik mampu menyuburkan tanah dan menyediakan unsur hara makro. Bakteri penambat N_2 non-simbiotik merupakan salah satu agen hayati yang telah banyak dimanfaatkan dan diinformasikan sebagai pupuk hayati [6]. Setiadi [7] menyatakan bahwa salah satu bakteri yang berpotensi sebagai pupuk hayati yang dapat digunakan dalam proses revegetasi termasuk lahan kritis salah satunya yaitu bakteri penambat N_2 non simbiotik.

Lahan kritis Bangka Belitung diperkirakan mencapai \pm 428.561 ha. Salah satu lahan kritis tersebut adalah lahan pasca penambangan timah yang memiliki kemiripan dengan padang sapu-sapu. Upaya pemulihan lahan bekas tambang timah perlu

dilakukan dengan pemanfaatan bakteri tanah yang potensial sebagai agen hayati seperti bakteri penambat N_2 .

Penelitian tentang bakteri penambat N_2 di lahan kritis pernah dilakukan oleh Reyes *et al.* [8] yang berhasil mengisolasi bakteri *Azotobacter* sp. dari penambangan batuan fosfat. Widawati dan Muharam [9], melaporkan bahwa hampir seluruh isolat bakteri penambat N_2 non-simbiotik yang diisolasi dari tanah masam, terbukti sebagai penambat N_2 bebas dari udara dan mampu meningkatkan kesuburan tanah dan menyediakan unsur hara makro serta mampu menghasilkan fitohormon *indole acetic acid* (IAA) dan *gibberellic acid* (GA).

Oleh sebab itu, perlu dilakukan penelitian mengenai kelimpahan dan potensi bakteri penambat N_2 non-simbiotik di Padang Sapu-Sapu di Dusun Pejem, Bangka. Isolat bakteri potensial penambat N_2 non-simbiotik diharapkan mampu digunakan untuk pemulihan kesuburan tanah sebagai pupuk hayati di lahan kritis khususnya lahan pasca penambangan timah.

METODE PENELITIAN

Pada penelitian ini sampel tanah yang diambil berasal dari padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah Dusun Pejem, Bangka.



Gambar 1. Lokasi penelitian di padang sapu-sapu (A) dan hutan dataran rendah Dusun Pajem, Bangka (B)

Teknik Pengambilan Sampel

Penentuan titik lokasi pengambilan sampling berdasarkan *purposive sampling* dengan wawancara pribadi dengan Kepala Dusun Pejem. Analisis vegetasi dan analisis tanah menggunakan data sekunder.

Isolasi Bakteri *Azotobacter*

Sebanyak 10 g sampel tanah dilarutkan ke dalam 90 mL NaCl fisiologis 0,85%, lalu dihomogenkan menggunakan *shaker* dengan kecepatan 120 rpm selama 1 jam. Seri pengenceran dibuat 10^{-1} – 10^{-7} dan sebanyak 1 ml suspensi dari tiga pengenceran terakhir

(10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7}) di inokulasi, pada media instan Himedia M706-500g *Ashby's Monitol Agar* yang merupakan media selektif bakteri *Azotobacter* sp. dilakukan dengan cara metode tuang [10]. Masing-masing dibuat 3 ulangan kemudian diinkubasi pada temperatur ruang 27-28°C selama 3-7 hari dengan posisi terbalik. Bentuk koloni bakteri *Azotobacter* sp dari media *Ashby's Monitol Agar* yaitu koloni kecil dan banyak, mengkilap, biasanya mempunyai permukaan yang datar dengan sedikit cekung di bagian tengah, seperti susu dan kelihatan bening [11]. Koloni bakteri yang didapat kemudian dilakukan pemurnian dengan cara digoreskan dengan metode *streak plate* pada media *Ashby's Monitol Agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur ruang 28°C.

Isolasi Bakteri *Azospirillum*

Sampel tanah 10 g dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 90 ml larutan NaCl steril dihomogenkan dengan vortex selama 60 menit. Suspensi tanah di encerkan hingga pengenceran 10^{-7} . Pengenceran 10^{-5} , 10^{-6} , dan 10^{-7} dipindahkan pada tabung reaksi yang berisi media instan Himedia *Azospirillum* semi-padat diinkubasi pada temperatur 37°C selama 72 jam. Pada media semi-padat *Azospirillum* tersebut akan terbentuk pelikel putih di bawah permukaan medium [12]. Pelikel putih dipindahkan lagi pada media baru *Azospirillum* semi-padat selama 72 jam. Pindahan dilakukan sebanyak tiga kali. Setelah dilakukan pindahan selama tiga kali dan terbentuk pelikel lalu dipindahkan lagi pada media *Azospirillum* padat yang mengandung 20 Mg ekstrak ragi per liter dan dipadatkan dengan agar 1,5%. diinkubasi pada temperatur 37°C selama satu minggu [13]. Setelah bakteri didapat, dilakukan pemurnian dengan metode *streak plate* pada media *Azospirillum* agar dan diinkubasi selama satu minggu pada temperatur ruang 27-28°C.

Karakteristik Morfologi Bakteri Penambat N_2 Non-Simbiotik

Pengamatan morfologi koloni bakteri penambat N_2 non-simbiotik menggunakan media *Ashby's Monitol Agar* untuk bakteri *Azotobacter* sp dan media *Azospirillum* padat untuk bakteri *Azospirillum* dilihat dari warna koloni, tepi koloni, bentuk koloni, permukaan koloni, elevasi koloni, uji gram dan bentuk sel [14].

Uji Hemolisis dan Uji Hipersensitivitas

Uji hemolisis menggunakan media *Blood Agar* secara langsung. Uji bakteri ini dilakukan dengan menginokulasikan satu ose isolat bakteri pada permukaan media *Blood Agar*, kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 18-24 jam. Pengamatan karakter hemolisis didasarkan atas bentuk zona hemolisis di sekeliling koloni bakteri Balashova et al. (2006) dalam Sari [15].

Uji hipersensitivitas isolat bakteri diinokulasikan ke media NB selama 2 hari. Suspensi bakteri kemudian disuntikkan pada sisi abasial daun daun tembakau. Pengamatan dilakukan setelah 48 jam dengan melihat gejala nekrotik pada daun tembakau Balashova et al. (2006) dalam Sari [15].

Uji Fitohormon IAA

Kultur bakteri ditumbuhkan pada media LB (Luria Bertani) selama 24 jam lalu diuji dengan cara ditetesi dengan larutan *Salkowski*. Hasil positif ditunjukkan dengan terjadinya perubahan warna menjadi *merah muda* setelah diinkubasi di tempat gelap selama 30 menit. Uji kualitatif dengan menggunakan metode kolorimetri dengan reagen *Salkowski* [16].

Pengujian Aktivitas N_2

Pengukuran aktivitas nitrogenase dilakukan dengan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA) dengan alat kromatografi gas [17]. Pengukuran aktivitas nitrogenase menggunakan kultur bakteri berumur satu bulan namun kultur bakteri ditumbuhkan kembali pada media *Ashby's Monitol Agar* selama 72 jam lalu dilakukan uji aktivitas nitrogenase dan pengujian di *Environmental Biotechnology Laboratory ICBB* (EBL-ICBB) Bogor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi bakteri penambat N_2 non-simbiotik pada sampel tanah yang berasal dari hutan padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah Dusun Pejem didapatkan sembilan isolat. Tiga isolat pada media *Azospirillum* dan enam isolat pada *Ashby's Monitol Agar*, yang memiliki karakter yang berbeda (Tabel 1).

Karakteristik isolat pada media *Azospirillum* yang berasal dari padang sapu-sapu memiliki morfologi koloni dengan bentuk bulat berukuran kecil

dan sedang, dengan elevasi dominan cembung, memiliki margin rata dan tidak rata, dan seluruh isolat merupakan gram positif dengan bentuk sel basil dan isolat yang berasal dari hutan memiliki karakteristik bentuk koloni bulat, margin rata, ukuran sedang, dengan elevasi cembung bentuk sel cocus dan bergram positif. Karakteristik morfologi pada media *Azospirillum* disajikan pada tabel 1.

Isolat bakteri penambat N_2 non-simbiotik pada media *Ashby's Monitol Agar* yang berasal dari padang sapu-sapu memiliki karakteristik morfologi dengan warna koloni putih kuning, bentuk bulat, margin rata dan elevasi cembung. Bentuk sel cocus dan bertipe gram negatif. Isolat yang berasal dari hutan memiliki karakteristik morfologi koloni yang bentuknya dominan bulat dan satu isolat ireguler dengan elevasi dominan cembung, walaupun ada beberapa datar dan ukuran bervariasi ada yang kecil, sedang dan besar

dengan margin dominan rata dan satu tidak rata dan warna, isolat yang bervariasi ada putih, putih susu, putih bening dan memiliki bentuk sel ada basil dan cocus, semua bertipe gram negatif karakteristik morfologi disajikan pada Tabel 1.

Berdasarkan hasil karakteristik morfologi dan fisiologi isolat bakteri pada media *Azospirillum*, bakteri yang tumbuh diduga memiliki kesamaan morfologi dengan bakteri *Streptomyces* dengan morfologi koloni berwarna putih, elevasi cembung, margin rata bentuk sel basil dan bergram positif [18].

Tumbuhnya bakteri *Streptomyces* pada media *Azospirillum* diduga pH pada media yang digunakan merupakan tempat tumbuhnya bakteri *Streptomyces* Arwiyanto et al. [19] menyatakan bahwa kisaran pH bakteri *Streptomyces* yaitu 4,3 sampai 8 dan kisaran temperatur 5 °C sampai 45 °C.

Tabel 1. Karakter morfologi bakteri penambat N_2 non-simbiotik (BPN) di Padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah

Kode Isolat	Bentuk	Elevasi	Ukuran	Karakter			Bentuk Sel	Uji gram
				Margin	Warna			
<i>Media Ashby' Monitol Agar</i>								
PS 107 (a)	bulat	Cembung	sedang	rata	putih kuning	Cocus	-	
TH 105 (a)	bulat	Cembung	sedang	rata	putih susu	Cocus	-	
SH 106 (a)	bulat	Cembung	kecil	rata	putih	Basil	-	
TH 105 (b)	bulat	Datar	kecil	rata	putih susu	Cocus	-	
TH 107 (b)	bulat	datar	besar	ombak	putih bening	Cocus	-	
PH 105	bulat	Cembung	sedang	rata	putih bening	Basil	-	
<i>Media Azospirillum</i>								
ZPS 106 (a)	bulat	Cembung	kecil	rata	putih bening	Basil	+	
ZPS 107 (b)	bulat	Cembung	sedang	ombak	putih susu	Basil	+	
ZTH 105 (a)	bulat	Cembung	sedang	rata	putih bening	Cocus	+	

Keterangan: TH (tiang hutan), SH (semay hutan), PH (pancang hutan) dan ZTH (tiang hutan) = isolat pada hutan, PS (pancang sapu-sapu), ZPS (padang sapu-sapu) = isolat padang sapu-sapu, TH, SH, PH dan PS= pertumbuhan isolat pada media *Ashby's Monitol Agar*, ZPS dan ZPH = pertumbuhan isolat pada media *Azospirillum* PS 107(a), TH 105(a), SH 106(a) ZPS 106(a), dan ZTH 105(a)= isolat kedalaman 0-10, TH 105(b), TH 107(b), PH 105(b) dan ZPS 107(b)= isolat kedalaman 10-20

pH media yang digunakan pada penelitian yaitu 7-7,8 untuk media padat dan 6,8 untuk media semi padat. Sehingga pertumbuhan bakteri pada media *Azospirillum* adalah bakteri *Streptomyces*. Pertumbuhan bakteri *Azospirillum* dapat dipengaruhi oleh komposisi dari media tumbuh dan pH. Rusmana dan Hadijaya [20] menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri *Azospirillum* sangat baik pada medium yang mengandung asam malat, asam suksinat atau piruvat dan pertumbuhannya kurang baik pada glukosa dan

asam sitrat. Astuti [21] menyatakan bahwa pertumbuhan bakteri *Azospirillum* perlu memperhatikan pH karena akan menghalangi pertumbuhan bakteri akibat tingginya pH media. Alexander [22] menyatakan bahwa *Azospirillum* hidup pada lingkungan dengan pH 6,8-7,9.

Pertumbuhan bakteri *Azospirillum* juga dipengaruhi oleh habitat lingkungan. Bakteri ini tumbuh baik pada pH 7 dan tidak mampu hidup di pH asam, tanah yang mempunyai pH di bawah 5,7

umumnya tidak mengandung *Azospirillum*. Holt et al. [13] menyatakan bahwa keberadaan bakteri Azospirillum bergantung dengan pH. Berdasarkan hasil analisis tanah hutan dataran rendah Pejem, pH tanah adalah 4,6 dan penelitian Nurtjahya et al. [2] menyatakan pH tanah padang sapu-sapu 4,1-5,1 atau asam sehingga tidak ditemukan bakteri *Azospirillum*.

Enam isolat bakteri pada media *Ashby's Manitol Agar* pada dua lokasi, terdapat satu isolat berasal dari padang sapu-sapu dan lima isolat ditemukan pada hutan dataran rendah. Koloni bakteri yang berasal dari padang sapu-sapu dengan kode isolat PS 107(a) memiliki karakteristik tidak berbeda jauh dengan isolat TH 105(a) dan PH 105(b) yang berasal dari hutan dataran rendah, namun memiliki perbedaan warna. Berdasarkan karakteristik pada media *Ashby's manitol Agar* di dua lokasi diduga memiliki kemiripan dengan bakteri penambat N₂ non-simbiotik *Azotobacter*. Pernyataan ini pun didukung oleh penelitian Isminarni et al. [23] yang menyatakan bahwa *Azotobacter* memiliki karakteristik koloni dengan bentuk bulat, cembung, warna koloni putih, bening, kuning sampai keruh dan coklat.

Karakter kunci utama genus *Azotobacter* adalah sel berbentuk coccus dan batang. Berdasarkan uji gram dan bentuk sel dari enam isolat ditemukan semua isolat bertipe gram negatif dengan bentuk sel bervariasi yaitu ada berbentuk basil dan coccus. Menurut Cowan et al. (1993), diacu dalam Kaburuan et al. [24] menyatakan genus *Azotobacter* termasuk ke dalam bakteri gram negatif, berbentuk batang dan coccus.

Uji seleksi bakteri penambat N₂ (BPN) non-simbiotik

Isolat bakteri yang diperoleh dari media *Azospirillum* tidak diuji lebih lanjut karena tidak ditemukan ciri-ciri dari bakteri *Azospirillum*. Isolat yang diperoleh pada media *Ashby's Manitol Agar* menunjukkan mampu menghasilkan fitohormon IAA.

Uji hemolisis dan hipersensitivitas dari enam isolat hanya satu isolat yang tidak menyebabkan reaksi hipersensitivitas dan hemolisis yaitu isolat dengan kode TH105 (a). Isolat TH105(a) mampu mereduksi asetilen menjadi etilen sebesar 0,397 mg/Kg disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji seleksi bakteri *Media Ashby' Manitol Agar*

Kode isolat	Uji hipersensitivitas	Uji hemolisis	Uji IAA	Uji aktivitas nitrogenase
PS 107(a)	nekrosis	γ	+	tidak dilakukan
TH 105(a)	nekrosis	γ	+	tidak dilakukan
SH 106(a)	nekrosis	α	+	tidak dilakukan
TH 105(b)	tidak nekrosis	γ	+	0,379
TH 107(b)	tidak nekrosis	α	+	tidak dilakukan
PH 105(b)	nekrosis	α	+	tidak dilakukan

Keterangan: γ = gamma (tidak lisis), α=alfa (lisis setengah)

Hasil dari dua lokasi menunjukkan bahwa enam isolat mampu menghasilkan fitohormon IAA ditandai dengan terbentuknya warna merah muda. Namun dari enam isolat tersebut lima isolat diduga patogen dan dilihat dari uji hipersensitivitas dan hemolisis. Isolat yang tidak berpotensi patogen yaitu isolat dengan kode TH 105(a). Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut bisa dijadikan sebagai kandidat pupuk hayati atau biofertilizer. Kemampuan bakteri penambat N₂ non-simbiotik dalam menghasilkan hormon tumbuh *indole acetic acid* (IAA) sudah banyak diketahui khususnya bakteri *Azotobacter*. Gholami et al. [25] menyatakan bahwa *Azotobacter* merupakan bakteri fiksasi N₂ yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh IAA.

Uji aktivitas nitrogenase dengan metode *acetylene reduction assay* (ARA) dilakukan untuk menguji kemampuan bakteri dalam menambat N₂ yang diukur berdasarkan kemampuan enzim nitrogenase dalam mereduksi asetilen (C₂H₂) menjadi etilen (C₂H₄) [25]. Hasil uji aktivitas nitrogenase pada isolat TH105(a) menunjukkan bahwa isolat memiliki kemampuan dalam menambat N₂ sebesar 0,379 mg/Kg. Penelitian yang dilakukan oleh Firrani [26], kemampuan isolat bakteri yang diisolasi dari akar kelapa sawit dalam menambat nitrogen menghasilkan 3,13 mg/Kg. Kemampuan isolat bakteri TH105(a) dalam menambat N₂ dapat dikatakan bahwa isolat tersebut merupakan bakteri penambat N₂ non-simbiotik yang potensial. Kriteria bakteri penambat N₂ non-simbiotik

yaitu tidak patogen, menambat N₂ dan menghasilkan fitohormon IAA.

Kelimpahan populasi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* dari dua lokasi yang berbeda menunjukkan bahwa jumlah populasi bakteri BPN *non-simbiotik* yang

tertinggi yaitu di hutan dataran rendah dengan jumlah populasi sebesar 85,32x10⁹ sedangkan di padang sapu-sapu jumlah populasi bakteri BPN *non-simbiotik* sebesar 0,33x10⁹ (Tabel 3).

Tabel 3. Kelimpahan bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* (BPN) pada padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah di Dusun Pejem, Bangka

Lokasi	Tingkat pertumbuhan pohon	Vegetasi Dominan	Rata-rata jumlah BPN (CFU g ⁻¹ tanah)		Total populasi bakteri (CFU g ⁻¹ tanah)	Total populasi bakteri dua lokasi
			0-10 cm	10-20 cm		
Padang sapu-sapu	semai	sapu-sapu (<i>Baeckea frutescens</i>)	-	-	-	0,33
	pancang	sapu-sapu (<i>Baeckea frutescens</i>)	-	0,33 x10 ⁹	0,33 x10 ⁹	
	tiang	sapu-sapu (<i>Baeckea frutescens</i>)	-	-	-	
Hutan dataran rendah	semai	mentangor pret (<i>Calophyllum</i> sp.)	3,3 x10 ⁹	-	3,3 x10 ⁹	85,32
	pancang	seruk (<i>Schima wallichii</i>)	-	33 x10 ⁹	33 x10 ⁹	
	tiang	seruk (<i>Schima wallichii</i>)	33 x10 ⁹	16,0 x10 ⁹	49,02 x10 ⁹	

Tinggi rendahnya total populasi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* dipengaruhi oleh ketersediaan sumber energi karbon organik di lingkungan rizosfir [27].

Berdasarkan analisis sifat fisik kimia tanah hutan dataran rendah pejem kedalaman 0-20 cm memiliki kandungan C-organik lebih tinggi dibandingkan dengan padang sapu-sapu, pada penelitian Nurtjahya et al. [2] C-organik di padang sapu-sapu 0,92% dan hutan dataran rendah 3,49%. C-organik yang rendah mempengaruhi total populasi bakteri.

Penelitian Indriani et al. [28] menunjukkan pada percobaan yang menggunakan bahan organik yang mana populasi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* memiliki populasi tertinggi pada dosis bahan organik 4,5 % dibandingkan dengan populasi dosis bahan organik 1,5 %. Bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* menggunakan bahan organik sebagai sumber karbon untuk mendapat energi [13], sehingga populasi bakteri di hutan dataran rendah lebih tinggi dikarenakan bahan organik merupakan makronutrien yang paling utama yang dibutuhkan khususnya karbon dan nitrogen. Madigan et al. [29] menyatakan bahwa bakteri prokariot autotrof menggunakan CO₂ sebagai satu-satunya sumber karbon sedangkan yang bersifat heterotrof menggunakan molekul organik sebagai sumber pertumbuhannya.

Nitrogen berperan penting dalam metabolisme seluler khususnya dalam pembelahan sel sehingga apabila kandungan nitrogen sedikit maka kemampuan bakteri untuk tumbuh semakin lambat. Berdasarkan analisis fisik kimia tanah pada dua lokasi penelitian kandungan N-total di lokasi hutan dataran rendah 0,21 data pribadi dan di padang sapu-sapu N-total 0,07 [2]. Hal ini menunjukkan bahwa N-total di padang sapu-sapu lebih rendah dibandingkan dengan hutan dataran rendah dan populasi bakteri di hutan dataran rendah lebih tinggi dibanding di padang sapu-sapu. Nitrogen yang rendah akan mempengaruhi jumlah populasi bakteri sehingga pertumbuhannya menjadi sedikit karena bakteri mengasimilasi senyawa nitrogen organik maupun anorganik untuk pertumbuhannya. Senyawa nitrogen akan direduksi oleh bakteri menjadi ammonia [30].

Kelembaban tanah juga merupakan faktor yang mempengaruhi populasi bakteri penambat N₂ *non-simbiotik* karena kelembaban tanah menentukan laju penambatan N₂ yang mempengaruhi keberadaan bakteri penambat N₂ *non-simbiotik*. Pengukuran mikroklimat pada kedua lokasi penelitian menunjukkan bahwa kelembaban tanah di hutan dataran rendah lebih tinggi yaitu berkisar 68-89 % dibandingkan dengan hutan padang sapu-sapu yang

berkisar 41-74,6 %. Rendahnya kelembaban tanah di hutan padang sapu-sapu disebabkan karena alih fungsi lahan yang terjadi di hutan padang sapu-sapu menjadi tambak udang, pembakaran hutan, penebangan pohon untuk kayu bakar dan bahan bangunan rumah masyarakat sekitar [29].

Kelembaban yang rendah akan menjadikan kondisi aerob sehingga akan mempengaruhi aktivitas enzim nitrogenase yang dimiliki oleh bakteri penambat N_2 *non-simbiotik* menjadi tidak aktif jika tekanan oksigen tinggi. Kelembaban yang tinggi akan menjadikan kondisi anerob sehingga aktivitas enzim nitrogenase menjadi aktif dan menyebabkan populasi bakteri tinggi [31].

Bakteri aerob penambat N_2 *non-simbiotik* membutuhkan oksigen untuk pertumbuhannya namun adanya oksigen akan mempengaruhi enzim nitrogenase. Perlindungan enzim terhadap oksigen yang dilakukan oleh bakteri aerob khususnya bakteri *Azotobacter* karena memiliki kapsul lendir yang tersusun dari polisakarida menyebabkan bakteri mampu bertahan dalam keadaan anerob [32].

Selain kelembaban dan bahan organik yang mempengaruhi populasi penyebaran bakteri penambat N_2 *non-simbiotik*, temperatur juga merupakan faktor penentu sebaran populasi bakteri tersebut. Temperatur tanah yang tinggi dapat menghambat pertumbuhan bakteri penambat N_2 *non-simbiotik*. Bakteri penambat N_2 *non-simbiotik* tumbuh optimal pada temperatur 30-35 °C [33]. Temperatur tanah pada penelitian di lokasi hutan dataran rendah berkisar 29-31°C dan di lokasi padang sapu-sapu berkisar 30-41 °C. Temperatur tinggi di hutan padang sapu-sapu mempengaruhi populasi bakteri penambat N_2 *non-simbiotik*, sehingga populasi bakteri di hutan padang sapu-sapu lebih rendah dibandingkan dengan hutan dataran rendah. Pranoto et al. [34] menyatakan bahwa bakteri penambat N_2 *non-simbiotik* khususnya bakteri *Azotobacter* sensitif terhadap temperatur 35°C.

KESIMPULAN

Bakteri penambat N_2 *non-simbiotik* (BPN) di padang sapu-sapu dan hutan dataran rendah berjumlah enam isolat, satu diantaranya diduga berpotensi sebagai pupuk hayati. Kelimpahan bakteri penambat N_2 *non-simbiotik* di padang sapu-sapu lebih rendah dibandingkan di hutan dataran rendah. Isolat

TH105(a) dengan genus *Azotobacter* dari hutan dataran rendah berpotensi digunakan sebagai pupuk hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi Universitas Bangka Belitung, SEAMEO-Biotrop-Bogor, dan Laboratorium Kesehatan Daerah Bangka Belitung yang memfasilitasi peminjaman alat dan tempat bagi peneliti.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Whitten T, Damanik SJ, Anwar J, Hisyam N. 2000. *The Ecology of Sumatera*. Singapore: Periplus Editions.
- [2] Nurtjahya E, Setiadi D, Guharja E, Muhadiono, Setiadi Y, 2008. "Succession on Tin Mined Land in Bangka Island".
- [3] Patti PS, Kaya E, Silahooy. 2003. Analisis Status Nitrogen Tanah dalam Kaitannya Dengan Serapan N oleh Tanaman Pada Sawah Di Desa Waimital, Kecamatan Kairatu, Kabupaten Serang Bagian Barat. *Agrologi*. 2(1): 51-58.
- [4] Schlegel HG, Schmidt K. 1994. *Mikrobiologi Umum*. Yogyakarta : UGM.
- [5] Miharja OAA. 2018. Peningkatan pertumbuhan dan hasil kedelai serta efisiensi pemupukan fosfat sebagai akibat pemberian pupuk hayati pada tanah utisol jatinangor.
- [6] Widiyawati I, Sugiyanta, Junaedi A, Widyastuti R. 2014. Peran Bakteri Penambat Nitrogen untuk Mengurangi Dosis Pupuk Nitrogen Anorganik pada Padi Sawah. *J. Agron indonesia*. 42(2): 96-102.
- [7] Setiadi Y. 2009. Revegetasi Lahan Pasca Penambangan Menggunakan Inokulan Bakteri pada Tumbuhan, Bogor. *Jurnal Biodiversitas*. 6(2): 20-22.
- [8] Reyes I, Valery A, Valduz Z. 2006. Phosphate-Solubilizing Microorganism Isolated from Rhizopheric and Bulk of Colonizer Plants at an abandoned rock phosphate mine pant and soil. *Plant soil*. 287(1): 69-75.
- [9] Widawati S, Muharam A. 2012. Uji laboratorium *Azospirillum* sp. yang diisolasi dari beberapa ekosistem. *J.hort*. 22(3): 258-267.
- [10] Caceres EAR. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Appl Environ Microbiol*. 44(4): 990-991.
- [11] Saraswati R, Husen E, Simanungkalit RDM. 2007. *Metode Analisis Biologi Tanah*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian.

- [12] Baldani VLD, Dobereiner J. 1980. Host-Plant Specificity in The Infection of Cereals With *Azospirillum spp.* *Soil Biology and Biochemistry*. 12: 433-439.
- [13] Holt JG, Krieg NR, Sneath PHA, Staley JT, Williams ST, 1994. *Bergey's Manual Determinative Bacteriology 9th*. USA: Williams & Wilkins.
- [14] Irianto. 2006. *Mikrobiologi: Mengungkap Dunia Mikroorganisme Jilid 1*. Bandung : Yrama Widya.
- [15] Sari E. 2015. Eksplorasi Vegetasi Fitoremediator dan Bakteri Rizosfer Resisten Logam Berat Pb dan Sn di Lahan Bekas Tambang Timah Pulau [Tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor.
- [16] Gordon SA, Weber RP. 1951. Colometric Estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiology*. 26: 192-195.
- [17] Gibson AH, Turner GL. Measurement of Nitrogen Fixation by Indirect Means. Di dalam: Bergensen FJ, editor. *Methods for*.
- [18] Remya M, Vijayakumar R. 2008. Isolation and Characterization of Marine Antagonistic Actinomycetes From West Coast of India. *Medicine and Biology*. 15(1): 13-19.
- [19] Arwiyanto T, Astuti A, Maryudani YMS. 2007. Karakteristik Parsial *Streptomyces ssp*, Agen Pengendali Penyakit Lincat Tembakau. 2:95-105
- [20] Rusmana I, Hadijaya DD. 1994. Aktivitas nitrogenase *Azospirillum sp.* dan Efektivitas dengan Jagung. J. Hayati. 1:51-54.
- [21] Astuti FF, Habazar T, Nasution CR, Yanti Y. 2017. Screening of Rhizobacteria from Rhizosphere of Healthy Chili to Control Bacterial with Disease and Promote Growth and Yield of Chili. *J biodiversitas*. 18 (1):1-9.
- [22] Alexander M. 1997. *Introduction to Soil microbiology*. John Wiley & Son : New York.
- [23] Isminarni F, Wedhastri S, Widada J, Purwanto BH. 2007. Penambat Nitrogen dan Penghasil Indol Asam Asetat oleh Isolat-Isolat *Azotobacter* pada pH Rendah dan Alluminium Tinggi. *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*. 7(1): 23-30.
- [24] Kaburuan R, Hapsah, Gusmawaratai. 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen NON-Simbiotik Tanah Gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. *Jurnal Agroteknologi*. 5(1): 35 - 39.
- [25] Gholami A, Shamsavani S, Nezarat S. 2009. The Effect of Plant Growth and Yield of Maize. *World Academy of Science, Engineering And Technology*. 49: 19-24.
- [26] Firrani M. 2011. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Diazotrof yang Memfiksasi Nitrogen Bebas pada Akar Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.). [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara.
- [27] Simanungkalit. 2006. *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati*. Bogor: Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Sumber Daya Lahan Pertanian.
- [28] Indriani FN, Hindersah R, Suryatmana P. 2017. N-Total, Serapan N dan Pertumbuhan Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.) Akibat Inokulasi Azotobacter dan Bahan Organik pada Tailing Tambang Emas Pulau Buru, Maluku. *J. Soilrens*. 15(2): 33-39.
- [29] Madigan MT, Martinko JM, Parker J. 2000. *Biology of Microorganism*. Ed ke-9. New Jersey : Prentice Hall.
- [30] Purwanto BH. 2007. Recovery Rates of Nitrogen Fertilizer Applied of Peat Soils in Different Characteristics and Landuse. *J. Ilmu tanah dan lingkungan*. 7(2): 117-121.
- [31] Wulantika. 2018. Kelimpahan Dan Keanekaragaman Cendawan Pelarut Fosfat Padang Sapu-Sapu Pejem Bangka. [Skripsi]. Balunijuk.
- [32] Danapriatna N. 2010. Biokimia Penambat Nitrogen oleh Bakteri Non-simbiotik. *J. Agribisnis*. 1(2): 1-10.
- [33] Sethi SK, Adhikary. Azotobacter Plant Growth-Promoting Rhizobacteria Used as Biofertilizer. *Dynamic Biochemistry, Proses*
- [34] Pranoto Y, Salokhe VM, Rakshit SK. 2005. Physical and Antibacterial Properties of Alginate-based Edible Film Incorporated with Garlic Oil. *J. Food Res. Intl*. 38: 267-272.