

SELEKSI BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN PENGHASIL HORMON IAA (*Indole Acetic Acid*) DARI RIZOSFER TANAH PERKEBUNAN KEDELAI (*Glycine max* L.)

Ratna Sari Tarigan¹, It Jamilah² dan Elimasni³

¹Mahasiswa Sarjana, Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara Jln. Bioteknologi No.1, Kampus USU, Padang Bulan, Medan 20155

²Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara Jln. Bioteknologi No.1, Kampus USU, Padang Bulan, Medan 20155. Email: ratnasari_tarigan@yahoo.com

Abstract

Rizosphere bacteria can be used to fix nitrogen and produce IAA (Indol Acetic Acid) as biofertilizer to support plant growth. The ability of rhizosphere bacteria can be improved using biotechnology. The aim of this study is to select the most potential nitrogen fixing and IAA producing bacteria. Nitrogen fixing and IAA producing bacteria were isolated using JNFB and Luria Bertani + L-tryptofan medium respectively. The ability of nitrogen fixing bacteria were tested by ARA method, while the ability of IAA producing bacteria were investigated by spectrophotometer technique of 535 nm. The highest IAA concentration was produced by isolate I₃ which was 33.3 ppm and the highest concentration of nitrogen was yielded by isolate N₃ which was 29.93 ppm. Both N₃ isolate and I₃ isolate potentially as biofertilizer known as PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria).

Keywords: nitrogen fixing bacteria, IAA producing bacteria, PGPR

Pendahuluan

Rizosfer merupakan daerah yang ideal bagi tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme tanah. Keadaan ini didukung oleh fungsinya, yaitu sebagai penyedia nutrisi dan juga sebagai tempat tumbuh dan berkembangnya mikroorganisme. Beberapa macam nutrisi disekresikan di dalam rizosfer, yang sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor lingkungan di dalam tanah. Beberapa bakteri penyedia hara yang terdapat pada rizosfer akar disebut sebagai rizobakteri pemacu tanaman atau dikenal sebagai PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Bashan & Holguin, 1998). PGPR memiliki peranan penting bagi tumbuhan, misalnya sebagai pengendali biologi melalui kompetisi, produksi antibiotik, induksi resistensi tanaman, produksi fitohormon, dan peningkatan ketersediaan hara melalui fiksasi nitrogen (Aryantha, 2004).

Mikroba tanah menghasilkan metabolit yang mempunyai peran sebagai zat pengatur tumbuh yang dapat menambat nitrogen (Nasahi, 2010). *Azotobacter* yang diisolasi dari tanah masam

Jawa Barat mempunyai kemampuan dalam penambatan nitrogen yang unggul (>400 mg/g berat kering sel) (Ismiarni, 2007). Isolat *Azotobacter* juga mampu menghasilkan zat pengatur tumbuh, seperti *Indole Acetic Acid* (IAA) (Wedhastri, 2002). Bakteri aerob obligat termasuk dalam genus-genus *Beijerinckia*, *Derrxia*, *Archromobacter*, *Mycobacterium*, *Arthrobacter* dan *Bacillus* diketahui mampu memfiksasi nitrogen (Rao, 1994). Beberapa hasil penelitian yang lain telah membuktikan bahwa sebagian mikroba dapat menghasilkan fitohormon seperti *Pseudomonas fluorescens* dan dilaporkan menghasilkan IAA yang juga dapat merangsang pertumbuhan akar jagung pada kondisi hidroponik (Benizri *et al.*, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk menseleksi bakteri penambat nitrogen dan bakteri penghasil IAA, serta diuji aktivitas mikroba yang diperoleh untuk mengetahui potensi bakteri dalam menambat nitrogen dan menghasilkan hormon IAA.

Bahan dan Metode

Bahan yang digunakan ialah tanah yang diisolasi disekitar perkebunan kedelai di daerah Tanjung Selamat, Medan, Sumatera Utara, reagen salkowski, media SCA (*Simon Citrat Agar*), TSIA (*Triple Sugar Iron Agar*), SIM (*Sulfide Indol Motility*), SA (*Starch Agar*), Gelatin, NA (*Nutrient Agar*), PCA (*Plate Count Agar*) LB (*Luria Bertani*) + L-Triptofan dan JNFB (*James Nitrogen Free Malat Bromthymol Blue*).

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Penambat Nitrogen

Isolasi bakteri penambat nitrogen dilakukan dengan menggunakan medium pertumbuhan JNFB (*James Nitrogen Free Malat Bromthymol Blue*). Terlebih dahulu dilakukan pengenceran tanah secara serial dan ditumbuhkan dengan metode cawan sebar pada medium pertumbuhan JNFB seperti yang dikemukakan oleh Baldani *et al.*, (1992). Bakteri diinkubasi selama 48 jam, dan diamati koloni yang tumbuh. Biakan murni diperoleh dengan menginokulasikan setiap koloni yang berbeda ke dalam petri yang berisi media JNFB. Isolat tersebut dikarakterisasi yang meliputi morfologi koloni, bentuk sel, morfologi sel, pewarnaan Gram dan uji biokimia yang terdiri atas uji sitrat, gelatin, katalase, motilitas, hidrolisa pati, dan sulfida.

Uji Kemampuan Bakteri dalam Menambat Nitrogen

Isolat yang telah dimurnikan dan telah diuji biokimia diinokulasikan pada media JNFB semi padat. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 10 hari dan diamati pelikel yang terbentuk. Isolat yang paling banyak menghasilkan pelikel diuji lanjut dengan metode Asai Reduksi Asetilen (Susilowati *et al.*, 2007).

Isolasi dan Pemurnian Bakteri Penghasil IAA

Isolasi bakteri penghasil hormon IAA dilakukan dengan menggunakan media *Luria Bertani* (LB) + L-triptofan (Bric *et al.*, 1991). Sampel tanah sebanyak 1 g dimasukkan ke dalam 9 ml akuades, kemudian dibuat seri pengenceran 10^{-4} . Bakteri ditumbuhkan dengan metode cawan sebar, perlakuan dibuat 3 kali ulangan. Koloni yang muncul diamati setelah diinkubasi pada suhu 28°C selama 2 hari. Biakan murni diperoleh dengan

meninokulasikan setiap koloni yang berbeda ke dalam petri yang berisi media LB+L-triptofan. Isolat tersebut dikarakterisasi yang meliputi morfologi koloni, bentuk sel, morfologi sel, pewarnaan Gram dan uji biokimia yang terdiri atas uji sitrat, gelatin, katalase, motilitas, hidrolisa pati, dan sulfida.

Uji Kemampuan Bakteri Menghasilkan IAA Secara *In-vitro*

Pengujian kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer. Isolat bakteri dibuat suspensi sebanyak 10 ml dengan standart Mac Farland sehingga diperoleh suspensi bakteri dengan kerapatan sel 10^8 CFU/ml. Suspensi biakan bakteri diambil sebanyak 3 ml dan dimasukkan ke dalam 27 ml media LB cair + L-triptofan. Masing-masing perlakuan dilakukan 2 kali ulangan dan diinkubasi pada suhu 28 °C, digoyang dengan kecepatan 100 rpm selama 6 hari didalam *shaker*. Setiap 2 hari sekali cairan kultur yang telah di *shaker* diambil sebanyak 0,1 ml untuk menghitung jumlah koloni dengan metode SPC (*Standart Plate Count*). Diambil 3 ml untuk menghitung kadar IAA yang dihasilkan oleh bakteri dan cairan kultur tersebut, disentrifugasi dengan kecepatan 5500 rpm selama 10 menit.

Supernatan yang diperoleh kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi steril untuk diuji kemampuannya dalam menghasilkan IAA. Pengujian metode kolorimetri, ditambahkan reagen Salkowski dengan perbandingan 4:1 (supernatan : Salkowski). Campuran tersebut diinkubasi selama 20 menit dan absorbannya diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm. Konsentrasi IAA dihitung dengan persamaan regresi linier dari kurva standart IAA.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen

Isolasi tanah yang dilakukan di perkebunan kedelai di Tanjung Selamat, diperoleh delapan isolat bakteri penambat nitrogen dengan karakter morfologi koloni, bentuk sel, dan pewarnaan Gram yang berbeda (Tabel 1).

Bentuk koloni dari isolat yang diperoleh pada umumnya bulat dan tak teratur, tepi koloni bervariasi seperti berombak, berbelah, utuh dan keriting. Elevasi koloni yang paling dominan pada isolat bakteri berbentuk rata sedangkan yang lainnya melengkung dan timbul rata. Warna bakteri putih dan kuning, sedangkan bentuk selnya bulat dan batang. Hasil pengelompokan sifat Gram yang dimiliki oleh kedelapan isolat setelah diuji menunjukkan bahwa semua isolat penambat nitrogen yang diperoleh bersifat Gram negatif. Penelitian yang dilakukan oleh Firrani (2011), mendapatkan hasil bahwa dari 20 isolat penambat nitrogen yang diisolasi dari akar sawit menunjukkan ada 19 isolat bakteri yang bersifat Gram negatif.

Tabel 1. Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen

Isolat	Karakterisasi				Gram	Bentuk sel
	Morfologi Koloni			Warna		
	Bentuk	Tepi	Elevasi			
N ₁	Bulat	Berombak	Rata	Putih	-	Bulat
N ₂	Tak teratur	Berbelah	Rata	Kuning	-	Bulat
N ₃	Bulat	Utuh	Rata	Putih	-	Batang
N ₄	Tak teratur	Berombak	Rata	Kuning	-	Batang
N ₅	Bulat	Utuh	Melengkung	Kuning	-	Bulat
N ₆	Tak teratur	Keriting	Rata	Putih	-	Batang
N ₇	Tak teratur	Berbelah	Timbul rata	Kuning	-	Bulat
N ₈	Tak teratur	Berbelah	Rata	Kuning	-	Batang

Berdasarkan hasil uji biokimia yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa semua isolat bakteri penambat nitrogen bersifat katalase positif, dua isolat yang bersifat motil yaitu N₅ dan N₇, dan hanya N₄ yang dapat menghidrolisis gelatin. Sebagian besar isolat dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya, dan sebagian lainnya mampu menghidrolisis pati dan memfermentasikan gula. Uji aktivitas biokimia dilakukan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menggunakan makromolekul dan mikromolekul lainnya untuk menghasilkan energi bagi bakteri dan

mengetahui kemampuan dalam mensintesis enzim tertentu (Fauziah, 2012).

Hasil uji biokimia yang dilakukan pada bakteri penambat nitrogen menunjukkan 7 isolat bakteri bersifat negatif terhadap uji gelatin, hanya 1 isolat yang bersifat positif yaitu N₄. Penelitian yang dilakukan oleh Firrani (2011), menunjukkan bahwa semua isolat bakteri penambat nitrogen yang diisolasi dari akar kelapa sawit bersifat negatif setelah diuji gelatin.

Tabel 2. Karakterisasi Biokimia Bakteri Penambat Nitrogen

Isolat	Uji Biokimia									
	Sitrat	Gelatin	Motilitas	Hidrolisa Pati	Sulfida					
					Katalase	Glukosa	Sukrosa	Laktosa	Endapan	Keretakan
N ₁	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
N ₂	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-
N ₃	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-
N ₄	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-
N ₅	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
N ₆	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-
N ₇	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+
N ₈	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+

Uji biokimia didasarkan pada berbagai hasil metabolisme yang disebabkan oleh daya kerja enzim. Reaksi pada medium TSIA digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan kemampuan memfermentasi glukosa, sukrosa dan laktosa pada medium. Bakteri yang mampu memfermentasi glukosa akan membentuk warna kuning pada bagian dasar media (*butt*), sedangkan bakteri yang mampu memfermentasi laktosa dan/atau sukrosa akan membentuk warna kuning pada bagian miring (*slant*). Uji hidrolisis pati untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis pati, sedangkan uji hidrolisis gelatin untuk mengetahui kemampuan menghidrolisis protein oleh enzim protease. Uji sitrat digunakan untuk melihat kemampuan bakteri menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan uji motilitas untuk melihat pergerakan bakteri yang ditandai adanya kekeruhan pada media SIM (Lay, 1994).

Uji Kemampuan Bakteri Penambat Nitrogen

Seleksi kemampuan bakteri dalam menambat nitrogen terlebih dahulu dilakukan secara kualitatif yang dilihat dari pelikel yang terbentuk di bawah permukaan media JNFB semi padat. Dari delapan bakteri penambat nitrogen terdapat tiga bakteri yang menghasilkan pelikel paling tebal dibawah permukaan mediumnya yaitu isolat N₆ dengan 0.60 cm, isolat N₃ dengan 0.55 cm dan N₄ dengan 0.60 cm (Tabel 3).

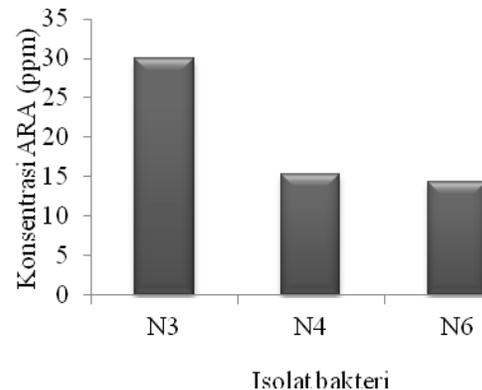
Terbentuknya pelikel pada permukaan media JNFB semipadat ini menunjukkan kondisi yang baik untuk aktivitas nitrogenase. Menurut Susilowati (2007), pelikel yang dihasilkan oleh bakteri pada media JNFB disebabkan di dalam medium tidak ada kelebihan oksigen, laju difusi oksigen sama dengan laju respirasi organisme merupakan kondisi yang baik untuk aktivitas enzim nitrogenase yang membantu mereduksi asetilen menjadi etilen. Oleh sebab itu ketiga bakteri yaitu isolat N₃, N₄ dan N₆ diuji lanjut secara kuantitatif dengan menggunakan metode ARA untuk mengetahui kemampuan masing-masing bakteri dalam menambat nitrogen.

Tabel 3. Pelikel yang Terbentuk oleh Bakteri Penambat Nitrogen

Isolat bakteri	Tebal pelikel (cm)
N ₁	0.45
N ₂	0.45
N ₃	0.60
N ₄	0.55
N ₅	0.45
N ₆	0.50
N ₇	0.40
N ₈	0.45

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam menyeleksi bakteri penambat nitrogen yang telah dilakukan dengan metode ARA didapatkan bahwa isolat N₃ memiliki kemampuan paling tinggi dalam menambat nitrogen di udara sebesar 29.93 ppm, diikuti oleh isolat N₄ sebesar 15.24 ppm dan isolat N₆ sebesar 14.42 ppm (Gb.1). Penelitian yang dilakukan oleh Firrani (2011), didapatkan hasil bahwa kemampuan isolat bakteri tertinggi dalam menambat nitrogen hanya menghasilkan 3.13 ppm yaitu bakteri yang diisolasi dari akar kelapa sawit.

Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat penambat nitrogen yang diolasi dari rizosfer kedelai memiliki kemampuan penambat nitrogen yang lebih baik.



Gambar 1. Uji asai reduksi asetilen bakteri penambat nitrogen

Hasil pengujian secara kuantitatif yang dilakukan dengan metode ARA ini berbanding lurus dengan pengujian kemampuan bakteri penambat nitrogen secara kualitatif yang ditandai dengan terbentuknya pelikel pada permukaan media JNFB semipadat. Kemampuan bakteri dalam menambat N₂ diukur berdasarkan kemampuan enzim nitrogenase dalam mereduksi asetilen (C₂H₂) menjadi etilen (C₂H₄) (Firrani, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa isolat N₃ memiliki kemampuan yang paling potensial dengan 29.93 ppm.

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri IAA

Tabel 4. Karakterisasi Bakteri Penghasil IAA

Isolat	Karakterisasi				Gram	Bentuk Sel
	Morfologi Koloni					
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna		
I ₁	Bulat	Utuh	Melengkung	Kuning	-	Bulat
I ₂	Bulat	Utuh	Melengkung	Kuning	-	Bulat
I ₃	Bulat	Utuh	Rata	Kuning	-	Batang
I ₄	Bulat	Berombak	Rata	Kuning	-	Bulat
I ₅	Tak teratur	Berombak	Rata	Kuning	-	Bulat

Diperoleh 5 isolat bakteri penghasil IAA dengan karakter morfologi koloni, bentuk sel, dan pewarnaan Gram yang berbeda. Koloni dari isolat berbentuk bulat dan tak teratur dengan tepi utuh dan berombak, sedangkan elevasi isolat yang diperoleh rata dan melengkung. Bakteri penghasil IAA ini didominasi dengan warna kuning dan Gram negatif. Sel yang berbentuk bulat lebih dominan dibanding yang berbentuk batang (Tabel 4).

Uji biokimia yang telah dilakukan menunjukkan perbedaan antara kelima bakteri penghasil IAA. Semua isolat yang diperoleh bersifat motil, uji katalase bersifat positif, dan tidak satu pun bakteri yang diperoleh dapat menghidrolisis gelatin. Hanya satu bakteri yang dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbonnya dan sebagian lainnya dapat menghidrolisis pati, serta menfermentasikan gula.

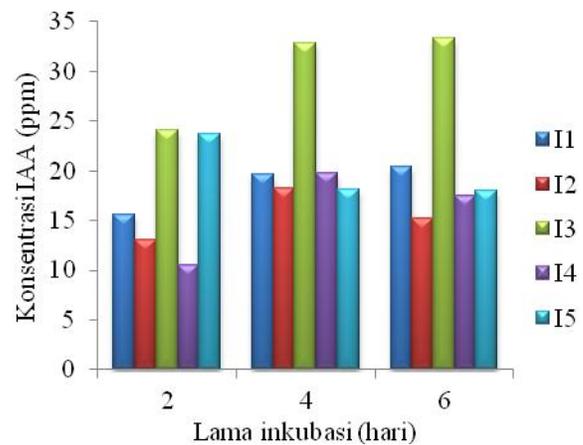
Tabel 5. Uji Biokimia Bakteri Penghasil IAA

Isolat	Uji Biokimia									
	Sitrat	Gelatin	Motilitas	Hidrolisa Pati	Katalase	Sulfida				
						Glukosa	Sukrosa	Laktosa	Endapan	Keretakan
I ₁	+	-	+	-	+	-	-	-	-	-
I ₂	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
I ₃	-	-	+	-	+	+	+	+	-	-
I ₄	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-
I ₅	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-

Hasil pengamatan pada uji biokimia menunjukkan bahwa semua isolat penghasil IAA bersifat positif setelah diuji katalase. Hal ini berbanding terbalik dengan penelitian yang dilakukan oleh Siregar (2009) yang mendapatkan bahwa semua bakteri penghasil IAA yang diisolasi dari akar padi bersifat negatif setelah diuji katalase. Perbedaan ini diduga disebabkan oleh asal isolasi bakteri yang tidak sama. Pengamatan aktivitas mikroorganisme dapat diketahui dari kemampuannya menggunakan dan menguraikan molekul yang kompleks seperti pati, lemak, protein, asam nukleat, asam amino dan sakarida. Hasil dari pengujian ini digunakan untuk spesifikasi mikroorganisme tersebut dan untuk membuktikan bahwa isolat-isolat tersebut berbeda.

Kemampuan Bakteri dalam Menghasilkan IAA secara *In-vitro* dan Pertumbuhan Koloni Bakteri

Uji kuantitatif terhadap kelima isolat bakteri dengan menggunakan spektrofotometer, menunjukkan bahwa konsentrasi IAA bervariasi dari masing-masing isolat. Pada hari ke-2, isolat I₃ menghasilkan IAA tertinggi sebanyak 24.10 ppm dan isolat I₄ menghasilkan IAA terendah sebanyak 10.50 ppm. Pada hari ke-4, isolat I₃ masih menghasilkan IAA tertinggi sebanyak 32.80 ppm dan isolat I₅ menghasilkan IAA terendah sebanyak 18.15 ppm. Pada hari ke-6, isolat I₃ masih menunjukkan dominansinya dalam menghasilkan IAA tertinggi sebanyak 33.3 ppm dan isolat I₅ masih tetap menghasilkan IAA terendah sebanyak 18.00 ppm. Hasil pengamatan tersebut menunjukkan bahwa isolat I₃ mampu menghasilkan konsentrasi IAA paling tinggi dan terus meningkat seiring dengan waktu (Gb.2).



Gambar 2. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh beberapa bakteri

Hasil pengamatan pertumbuhan koloni bakteri pada hari ke-2, ke-4 dan hari ke-6 menunjukkan bahwa pertumbuhan kelima bakteri penghasil IAA terus meningkat seiring dengan waktu. Isolat I₃ secara konsisten menunjukkan peningkatan jumlah koloni dari hari ke-2 sampai hari ke-6 dengan jumlah koloni 3.12×10^9 CFU/ml pada hari ke-2, 2.16×10^{14} CFU/ml pada hari ke-4, dan 2.42×10^{18} CFU/ml pada hari ke-6. Sedangkan isolat I₅ dan I₁ menunjukkan jumlah koloni terendah dibandingkan 3 isolat lainnya, namun demikian masih menunjukkan peningkatan koloni seiring dengan waktu. Pertumbuhan koloni isolat I₃ ini juga

berbanding lurus dengan konsentrasi IAA yang dihasilkan, oleh karena itu isolat I₃ ialah isolat yang dianggap paling potensial dibandingkan keempat isolat lainnya.

Tabel 6. Jumlah Koloni Bakteri Penghasil IAA selama Inkubasi

Isolat	Jumlah Koloni (CFU/ml)		
	Hari ke-2	Hari ke-4	Hari ke-6
I ₁	1,26 x 10 ⁸	7,50 x 10 ¹¹	1,86 x 10 ¹⁷
I ₂	9,70 x 10 ⁸	1,56 x 10 ¹³	2,15 x 10 ¹⁷
I ₃	3,12 x 10 ⁹	2,16 x 10 ¹⁴	2,42 x 10 ¹⁸
I ₄	1,18 x 10 ⁹	1,32 x 10 ¹³	1,73 x 10 ¹⁷
I ₅	9,40 x 10 ⁷	3,8 x 10 ¹²	1,56 x 10 ¹⁷

Variasi konsentrasi hormon IAA yang dihasilkan oleh masing-masing isolat diduga karena perbedaan kemampuan kecepatan bakteri dalam mensintesis triptofan menjadi IAA. Biosintesis IAA oleh mikroba dapat ditingkatkan dengan penambahan triptofan sebagai prekursor. Menurut Bric (1991), bakteri yang menghasilkan IAA dapat ditumbuhkan di dalam media pertumbuhan yang mengandung triptofan yang penting dalam pembentukan IAA. IAA disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan (Lucyanie, 2009).

Bakteri I₂, I₄ dan I₅ menghasilkan IAA yang terus menurun dari hari ke-2, hari ke-4 hingga hari ke-6 sedangkan pertumbuhan jumlah koloni terus meningkat, hal ini diduga karena setelah hari ke-4 dan selanjutnya, bakteri menggunakan nutrisi yang terkandung di dalam media hanya untuk pertumbuhan saja, tidak digunakan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu IAA. Menurut Lestari (2007), semakin lama umur bakteri, produksi IAA cenderung menurun. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh turunnya kandungan nutrisi, di lain pihak IAA yang dihasilkan dikonsumsi kembali untuk pertumbuhan. Perbedaan kemampuan bakteri dalam menggunakan nutrisi yang terdapat di dalam media untuk mendukung laju metabolismenya akan mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri tersebut. Selain nutrisi, jenis mikroba dan keadaan mikroba

saat diinokulasikan juga mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri.

Kesimpulan

Diperoleh 5 isolat penghasil IAA dan 8 isolat penambat nitrogen yang diisolasi dari daerah rizosfer tanaman kedelai di perkebunan Tanjung Selamat, Medan, Sumatera Utara. Isolat I₃ memiliki kemampuan paling potensial dalam menghasilkan IAA secara *in-vitro* dengan konsentrasi sebanyak 33.3 ppm sedangkan isolat N₃ memiliki kemampuan menambat nitrogen yang paling potensial setelah diuji secara kualitatif dan kuantitatif sebesar 29.93 ppm. Isolat N₃ dan I₃ berpotensi sebagai biofertilizer dalam mendukung pertumbuhan tanaman.

Daftar Pustaka

- Aryantha, I.NY.P., P.L Dian. & P.D.P Nurmi. 2004. Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Hijau Pada Kondisi Hidroponik. *Mikrobiol Indones.* **9**: 43-46.
- Baldani, V.L.D., J.L. Baldani, F.L. Olivers, & J. Dobereiner. 1992. Identification of Rice by the N-fixing bacteri *Herbaspirillum* spp. And *Azospirillum brasilense*. p. 705. In *New Horizons in Nitrogen Fixation*. R. Palacions, K. Moor, W.E. and Newton (Eds.). London: Kluwer Academic Publishers.
- Bashan, Y., & Holguin, G. 1998. Proposal for The Division of Plant Growth Promoting Rhizobacteria into Two Classifications Biocontrol PGPB (Plant Growth-Promoting Bacteria) and PGPB. *Soil Biol Biochem.* **30**: 1225-1228.
- Benizri, E., Courtade, C., & Guckert, A. 1998. Role of Maize Root Exudates In the Production of Auxin by *Pseudomonas fluorescens* M3.1. *Soil Biol Biochem.* **30**. 1481-1482.
- Bric, J.M., Richard, M.B., & Sara, E.S. 1991. Rapid In Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane. *Appli Environ Microbiol.* **57**: 535-538.
- Fauziah, N. 2012. *Potensi Bakteri Endorizosfer Ageratum Conyzoides L. Sebagai Antagonis*

- Patogen Manusia*. Bandung: Universitas Pendidikan Indonesia.
- Firrani, M. 2011. *Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Diazotrof yang Memfiksasi Nitrogen Bebas pada Akar Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Skripsi. Medan. Universitas Sumatera Utara.
- Ismiarni, F., Wedhastri, S., Widada, J. & Bembo, H. P. 2007. Penambatan Nitrogen dan Fungsi Penghasil Indol Asam Asetat oleh Isolat-Isolat *Azotobacter* pada pH Rendah dan Aluminium Tinggi. *J Ilmu Tanah Ling.* **7**: 23-30.
- Lay, B.W. 1994. *Analisa Mikroba di Laboratorium*. Edisi pertama. Cetakan pertama. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada. hlm 59-72.
- Lestari, P., N.S Dwi. dan I.R. Eny. 2007. Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan *Azospirillum* sp. Terhadap Perkembangan Akar Padi. *J Agro Biogen.* **3**: 66-72.
- Lucyanie, D. 2009. *Pengaruh Penambahan Bahan Organik yang Mengandung Triptofan (TRP) terhadap Produksi Asam Indol Asetat (AIA) oleh Azospirillum spp. Strain Lokal*. Skripsi. Bandung: ITB.
- Nasahi, H. C. 2010. *Peran Mikroba dalam Pertanian Organik*. Tesis. Bandung: Universitas Padjajaran.
- Rao, N.S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi Kedua. Jakarta: UI-Press. hlm 100.
- Siregar, M. W. 2009. *Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (Indol Acetic Acid) dari Akar Tanaman Padi (Oryza sativa L.)*. Skripsi. Departemen Biologi: FMIPA USU.
- Susilowati, D. N, R. Saraswati, R.D. Hastuti, dan Yuniarti, E. 2007. Peningkatan Serapan N pada Kedelai yang Diinokulasi Bakteri *Diazotrof Endofit* di Medium Vermiculit. *J Tanah Iklim*. Bogor. **26**. 41-46.
- Wedhastri, S. 2002. Isolasi dan seleksi *Azotobacter* spp. Penghasil Faktor Tumbuh dan Penambat Nitrogen dari Tanah Masam. *J Ilmu Tanah Ling.* **3**: 45-51.