

KARAKTERISASI MORFOLOGI DAN FISILOGI MIKROB PELARUT FOSFAT DAN MIKROB PENAMBAT N₂ (AZOTOBACTER) DARI RHIZOSFER TANAMAN PADI DAN TANAH HUTAN CIFOR DRAMAGA BOGOR

Cornelia Dolfina Maatoke¹, Zahriska Dewani², Fuzi Suciati³

¹Program Studi Agroteknologi, Fakultas Ilmu Alam dan Teknologi Rekayasa, Universitas Halmahera

²Program Studi Bioteknologi Tanah dan Lingkungan, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Institut Pertanian Bogor

³Pusat Riset Lingkungan dan Teknologi Bersih, Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN)

¹²³Email: onnanona81@gmail.com, dzahriska@yahoo.co.id, fuzi@balaitl.com

ABSTRACT

This study aims to determine the morphological and physiological properties of Phosphate Solubilizing Microbes (MPF) and Azotobacter. The method used was to test morphological properties using gram staining and physiological properties tests using biochemical tests based on cell activity by looking at the interaction of bacterial metabolism with the test reagent media. Data analysis examined the reaction to the isolated morphological and physiological test media. The results showed that based on the morphological observations of the MPF, the colonies showed a slightly milky white color, round, convex, slimy shape, 1-2 mm in diameter and flattened, and Gram-positive. Azotobacter shows the characteristics of transparent color, convex, flat edges, slightly slimy, an average diameter of 1 mm, and is Gram-negative; whereas based on the results of physiological test observations for catalase and oxidation tests, the characteristic of MPF and Azotobacter, each showed a positive (+) effect, as seen from the formation of bubbles in the test results. Tests for motility and O₂ requirements show that both bacteria are motile, mobile and aerobic or require oxygen for growth. The observations of resistance in the pH range showed that Azotobacter was more resistant to extreme acid-base pH with a pH range of 3-9, while MPF could only survive in a pH range of 5-9. Tests of glucose and sucrose fermentation showed that MPF did not form gas bubbles (-) and no color change (-). At the same time, Azotobacter showed the formation of gas bubbles (+) but no color change (-).

ARTICLE HISTORY

Received 4 March 2024
Revised 16 March 2024
Accepted 1 April 2024

KEYWORDS

Azotobacter
Morphological
Physiological,
Rhizospher

Pendahuluan

Tanah merupakan bagian horizon bumi hasil pelapukan batuan yang mengandung banyak mineral dan bahan organik, tanah dengan struktur berongga menjadi tempat yang baik untuk perkembangan akar serta habitat hidup bagi berbagai mikroorganisme. Meningkatnya hara di dalam tanah dipengaruhi oleh interaksi mutualisme antara mikroorganisme dan akar tanaman dimana interaksi tersebut berlangsung di daerah rhizosfer yang merupakan tempat akar tanaman dan mikroorganisme melakukan aktivitas metabolisme dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Pertumbuhan mikroorganisme akan sangat baik di rhizosfer karena akar

*CORRESPONDING AUTHOR. Email: onnanona81@gmail.com

menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya dapat menstimulir pertumbuhan mikroorganisme.

Mikrob Pelarut Fosfat (MPF) dan mikrob penambat N₂ merupakan kelompok mikrob PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*), kemampuan bakteri ini sudah banyak diteliti memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tanaman. Penelitian yang dilakukan oleh (Wang et al., 2019) melaporkan bahwa mikrob penambat N₂ dan mikrob pelarut fosfat yang diinokulasikan pada tanaman jagung mampu meningkatkan pertumbuhan dan hasil panen tanaman jagung dengan memberikan interaksi positif dalam aktifitas reduksi C₂H₂ serta meningkatkan serapan fosfor dan nitrogen. Mikroorganisme yang hidup di alam umumnya mempunyai morfologi, struktur dan sifat-sifat yang unik, demikian juga bakteri yang hidup di tanah. Bakteri memiliki beragam variasi bentuk atau morfologi seperti coccus, basil dan spiral. Umumnya bakteri tidak berwarna dan transparan apabila ditumbuhkan pada media pertumbuhannya, sehingga untuk mengamati sifat morfologi secara mikroskopik maka dilakukan pewarnaan agar bakteri tampak jelas terlihat (Lestari & Hartati, 2017). Pewarnaan gram dilakukan terhadap biakan murni bakteri hasil isolasi untuk mengetahui perubahan warna bakteri, memperjelas ukuran dan bentuk sel, melihat struktur luar dan dalam bakteri seperti dinding sel dan vakuola, melihat sifat fisik dan kimia yang khas dari bakteri dengan zat warna (Zendhabad et al., 2017).

Uji fisiologi biasanya identik dengan uji biokimia (Prastio et al., 2022). Bakteri diidentifikasi melalui uji fisiologi berdasarkan aktivitas selnya. Tujuan uji biokimia dilakukan untuk mengetahui adanya interaksi biomolekul satu dengan lainnya yang membawa sifat-sifat keadaan hidupnya. Dalam uji biokimia, interaksi metabolit-metabolit dengan reagen kimia biasanya menunjukkan sifat metabolisme bakteri. Identifikasi bakteri ini dapat dilakukan dengan beberapa uji diantaranya dengan melakukan uji fermentasi, uji oksidase, uji produksi katalase dan uji motilitas (Panjaitan et al., 2020).

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui morfologi dari MPF dan *Azotobacter* berdasarkan bentuk sel, pewarnaan gram, dan elevasi serta mengetahui fisiologi MPF dan *Azotobacter* melalui uji biokimia berdasarkan kemampuan bakteri dalam memfermentasikan glukosa dan sukrosa, uji ketahanan terhadap berbagai pH, uji oksidase dan katalase, serta uji motilitas dan kebutuhan oksigen.

Metode

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Insitut Pertanian Bogor. Penelitian dilakukan pada bulan Oktober 2016 s.d November 2016. Lokasi pengambilan sampel dilakukan pada dua lokasi yaitu daerah persawahan yang berada di belakang kampus Institut Pertanian Bogor dan hutan CIFOR Dramaga.

1. Sumber Isolat

Sumber isolat berasal dari tanah sawah dan tanah hutan. Pengambilan tanah untuk sumber isolat ini dilakukan pada sekitar rhizosfer baik pada tanah sawah yang berada di belakang kampus IPB Dramaga maupun pada vegetasi hutan CIFOR dan dilakukan isolasi. Hasil isolasi disajikan pada Tabel 1. Dengan menghitung rata-rata populasi mikrob Pelarut Fosfat (MPF) dan *Azotobacter* koloni Mikrob Pelarut Fosfat dan koloni *Azotobacter* yang tumbuh pada tanah hutan dan tanah sawah.

Tabel 1. Rata-rata Populasi Mikrob Pelarut Fosfat (MPF) dan *Azotobacter*

Bakteri	Tanah Hutan		Tanah Pertanian	
<i>Mikrob Pelarut Fosfat</i> (MPF)	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻⁴
<i>Azotobacter</i>	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻³	10 ⁻²

2. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Bentuk Sel

Pewarnaan Gram dilakukan berdasarkan cara kerja (Walida et al., 2019). Objek glass disiapkan dan dibersihkan dengan menggunakan alkohol, diberi label sesuai dengan kode bakteri. Setelah itu, jarum ose disterilisasi dengan cara dipanaskan pada api bunsen. Masing-masing satu ose suspensi bakteri (MPF dan *Azotobacter*) diambil dan difiksasi pada permukaan objek glass. Selanjutnya, preparat yang telah difiksasi ditetesi dengan Cristal Violet selama 1 menit, kemudian dicuci dengan aquades. Tahap berikut ditetesi dengan Iodin selama 1 menit, dan dicuci dengan aquades. Setelah itu, ditetesi dengan alkohol selama 15 detik, dan dicuci kembali dengan aquades. Tahap terakhir adalah ditetesi dengan Safranin selama 30 detik kemudian dicuci dengan aquades. Setelah dilakukan pewarnaan gram, preparat MPF dan *Azotobacter* siap diamati dibawah mikroskop untuk pengamatan bentuk selnya.

3. Pengujian Katalase dan Oksidase

Uji katalase dilakukan berdasarkan cara kerja (Hala & Arifin, 2021). Objek glass terlebih dahulu disiapkan dan dibersihkan dengan menggunakan alkohol dan diberi label sesuai dengan kode bakteri. Setelah itu, jarum ose disterilisasi dengan cara dipanaskan pada api bunsen. Masing-masing satu ose suspensi bakteri (MPF dan *Azotobacter*) diambil dan digoreskan pada permukaan objek glass, biakan bakteri yang telah digores, ditetaskan dengan hydrogen peroksida (H₂O₂) 3% pada koloni bakteri tersebut. Adanya gelembung, udara menunjukkan bahwa tes tersebut positif. Pada pengujian oksidase, tahap pertama adalah dengan menggunakan kertas oksidase (*Bactident Oxidase Kit*), kemudian secara aseptik, satu ose penuh koloni bakteri MPF dan *Azotobacter* dioleskan pada kertas oksidase selama 60 detik. Tes dinyatakan positif jika koloni bakteri berubah warna menjadi ungu dan dinyatakan negatif, jika tidak berwarna (Antriana, 2014).

4. Pengujian Motilitas dan Kebutuhan O₂

Uji motilitas dilakukan mengikuti cara kerja (Mergypa et al., 2014). Pengujian dilakukan dengan cara pengambilan koloni MPF dan bakteri *Azotobacter* secara aseptik menggunakan jarum ose. Selanjutnya, inokulasikan secara vertikal pada media *Nutrien Broth* (NB) yang mengandung agar 0,5 % semi solid pada tabung reaksi dan diinkubasi selama 2 hari dengan suhu ruang. Motilitas bakteri ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri menyebar ke seluruh media tidak hanya pada daerah bekas tusukan (Fan et al., 2020). Bakteri non motil tumbuh sepanjang daerah bekas tusukan. Pengujian kebutuhan O₂ dilakukan dengan cara pengambilan suspensi MPF dan bakteri *Azotobacter* secara aseptik sebanyak 1 ml yang kemudian diinokulasikan pada media NA semi solid yang berada di dalam tabung reaksi. Selanjutnya diinkubasi selama 3 hari. Kebutuhan O₂ ditunjukkan dengan adanya koloni bakteri pada media NA di dalam tabung reaksi (baik pada permukaan tabung, tengah tabung, dasar tabung maupun tersebar di dalam media) (Bonnet et al., 2020).

5. Pengujian pH dan Fermentasi Glukosa dan Sukrosa

Pada pengujian pH, hal yang dilakukan adalah dengan mengambil suspensi MPF dan bakteri *Azotobacter* secara aseptik sebanyak 1 ml. Selanjutnya diinokulasikan pada media NB yang telah disterilisasi dan diatur variasi nilai pH-nya, yaitu pH 3, pH 5, pH 6, pH 7, dan pH 9. Kemudian diinkubasi sambil dishaker selama 3 hari. Pertumbuhan bakteri ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada media. Pada pengujian fermentasi glukosa dan sukrosa, hal pertama yang dilakukan adalah dengan menyiapkan media NB yang telah berisi media NB + Glukosa

dan media NB + Sukrosa ke dalam tabung reaksi. Kemudian tabung durham dimasukkan dalam posisi dibalik ke dalam tabung reaksi yang telah diisi media tersebut. Selanjutnya, suspensi MPF dan bakteri *Azotobacter* diambil secara aseptik sebanyak 1 ml dan diinokulasikan ke dalam tabung yang berisi media secara perlahan-lahan. Kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 3 hari. Bakteri yang mampu memfermentasikan gula, ditandai dengan adanya gelembung-gelembung pada permukaan tabung durham (Irza et al., 2021).

Hasil

1. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Bentuk Sel

Hasil pewarnaan gram dan pengamatan bentuk sel bakteri pada mikroskop menunjukkan bahwa bakteri MPF dan *Azotobacter* berwarna merah, bersifat gram negatif dan hidup berkelompok, namun MPF dan *Azotobacter* berbeda dalam bentuk tubuh. Hasil Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel MPF dan *Azotobacter* tersebut disajikan dalam Tabel berikut ini.

Tabel 2. Hasil Pewarnaan Gram dan Bentuk Sel MPF dan *Azotobacter*

<i>Mikrob Pelarut Fosfat (MPF)</i>		<i>Azotobacter</i>	
	Ciri – ciri :		Ciri – ciri:
Bentuk	Basil	Bentuk	Coccus
Warna	Ungu	Warna	Merah
Sifat	Bakteri Gram Positif	Sifat	Bakteri Gram Negatif
Penataan	Berkelompok	Penataan	Berkelompok

2. Pengujian Katalase dan Oksidase

Hasil pengujian Katalase Uji katalase bersifat positif menunjukkan bahwa bakteri mempunyai enzim katalase untuk menguraikan H₂O₂ menjadi oksigen dan air. Reaksi positif ditandai dengan adanya gelebung-gelembung pada gelas objek. Berdasarkan hasil pengujian baik MPF ataupun bakteri *Azotobacter* menunjukkan adanya gelembung. Hasil pengujian katalase sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil pengujian katalase

Bakteri	Hasil
<i>Mikrob Pelarut Fosfat (MPF)</i>	+
<i>Azotobacter</i>	++

Keterangan : + = Terbentuk gelembung
++ = Terbentuk gelembung banyak

3. Pengujian Motilitas dan Kebutuhan O₂

Berdasarkan uji motilitas yang telah dilakukan didapatkan bahwa baik MPF ataupun *Azotobacter* bersifat motil. Hal ini dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri tidak hanya pada bekas tusukan melainkan juga menyebar sampai ke atas media. Hasil tersebut menunjukkan bahwa kedua bakteri mempunyai flagela yang bergerak menyebar baik disekitar daerah tusukan sampai ke bagian permukaan media.

Tabel 4. Hasil uji motilitas

Bakteri	Hasil
<i>Mikrob Pelarut Fosfat (MPF)</i>	+
<i>Azotobacter</i>	+

Keterangan : + = Bergerak (motil)

Berdasarkan uji kebutuhan oksigen yang telah dilakukan didapatkan bahwa baik MPF ataupun *Azotobacter* menunjukkan pertumbuhan di bagian permukaan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada permukaan media di dalam tabung reaksi, kekeruhan tersebut menandakan bahwa kedua bakteri uji merupakan bakteri aerob yang membutuhkan oksigen untuk hidup. Hasil ini sejalan dengan penelitian (Rosita et al., 2023).

4. Pengujian pH dan Fermentasi Glukosa dan Sukrosa

Hasil pengamatan ketahanan MPF dan *Azotobacter* terhadap rentang pH menunjukkan bahwa *Azotobacter* lebih tahan terhadap pH asam-basa yang ekstrim dengan rentang pH 3-9. Namun, pH optimum untuk *Azotobacter* berada pada 7-7,5 (Yulitaasary et al., 2017). Sedangkan MPF tidak terlalu tahan dengan pH yang ekstrim, hal ini dapat dilihat pada hasil pengamatan di bawah ini, bahwa MPF hanya dapat bertahan pada rentang pH 5-9. MPF tahan terhadap pH basa seperti saat penanaman kacang kedelai, petani selalu menambahkan kapur di tanah untuk menaikkan pH agar MPF dapat tumbuh optimal.

Tabel 4. Hasil uji pH dan Fermentasi Glukosa dan Sukrosa

<i>Mikrob Pelarut Fosfat</i> (MPF)				<i>Azotobacter</i>			
pH	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	pH	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III
3	-	-	-	3	+	+	+
5	+	+	+	5	+	+	+
6	+	+	+	6	+	+	+
7	+	+	+	7	+	+	+
9	+	+	+	9	+	+	+

Pada pengujian fermentasi ini, hanya menggunakan glukosa dan sukrosa sebagai sumber karbohidrat untuk MPF dan *Azotobacter*. Penggunaan glukosa dan sukrosa dalam media untuk Mikrob Pelarut Fosfat, masing-masing tidak menunjukkan terjadinya perubahan warna dan juga tidak terjadi pembentukan gelembung gas. Sedangkan pada pengujian penggunaan glukosa dan sukrosa pada *Azotobacter* memperlihatkan hasil positif ditandai dengan pembentukan gelembung gas pada tabung Durham namun negatif (-) ditandai dengan tidak terjadi perubahan warna. Hasil uji fermentasi glukosa dan sukrosa disajikan dalam Tabel berikut.

Bakteri	Glukosa (Gelembung, Warna)	Sukrosa (Gelembung, Warna)
MPF	Negatif (-), tdk berubah warna	Negatif (-), tdk berubah warna
<i>Azotobacter</i>	Positif (+), tidak berubah warna	Positif (+), tidak berubah warna

Pembahasan

1. Pewarnaan Gram dan Pengamatan Bentuk Sel

Bakteri gram positif memiliki dinding sel yang kompak dengan tiga puluh lapisan peptidoglikan, sedangkan bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tipis dengan hanya satu atau dua lapisan, dan permeabilitas dinding selnya lebih tinggi sehingga kompleks kristal yodium masih dapat terlepas. Kemampuan sel untuk menahan (mengikat) warna ungu kristal violet selama proses dekolonisasi alkohol menentukan perbedaan antara bakteri gram positif dan gram negative (Lainjong, 2024). Untuk pewarnaan gram, reagen yang digunakan adalah

satu tetes larutan kristal violet digunakan sebagai cat utama untuk mengikat peptidoglikan bakteri. Satu tetes lugol atau iodine digunakan sebagai mordant untuk meningkatkan cat utama. Satu tetes etanol 96% digunakan sebagai peluntur untuk melunturkan cat utama. Satu tetes safranin digunakan sebagai cat penutup untuk mewarnai kembali sel-sel yang sudah kehilangan warna cat utamanya.

Pada saat pemberian kristal violet, bakteri gram positif dan negatif sama-sama berwarna ungu. Saat ditetesi lugol, pada gram positif terbentuk kompleks lugol kristal violet sehingga sel berwarna biru, demikian juga gram negatif. Namun setelah pencucian dengan etanol, warna ungu yang diikat oleh bakteri gram negatif menjadi luntur, sedangkan pada bakteri gram positif tidak terjadi. Pada gram negatif, lemak dikeluarkan dari dinding sel, yang menyebabkan pori membesar dan kompleks violet kristal-lugol keluar dari sel. Sebaliknya, pada gram positif, dinding sel menjadi dehidrasi, pori berkerut, dan permeabilitas rendah. Akibatnya, kompleks violet kristal-lugol terperangkap antara dinding sel dan membran sitoplasma sel, yang menyebabkan warna yang diikat tetap biru atau ungu. Saat penambahan safranin, bakteri gram negatif mengikatnya sedangkan bakteri gram positif melewatkannya. Setelah melakukan isolasi didapatkan morfologi koloni MPF yaitu berwarna agak putih susu, bentuk bulat, elevasi cembung, berlendir, diameter 1-2 mm dan rata halus.

Hasil pengamatan yang dilakukan pada koloni *Azotobacter* menunjukkan ciri-ciri cembung, pinggiran rata, bening, rata-rata diameter 1 mm, sedikit berlendir. Mikrob Pelarut Fosfat (MPF) pada penelitian ini bersifat Gram positif terlihat bentuk sel berwarna ungu dan bakteri *Azotobacter* bersifat Gram negatif dimana terlihat bentuk sel hasil pewarnaan yang berwarna merah, penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Kaburuan et al., 2014); (Erfin et al., 2016); (Zikmanis et al., 2020); (Guardiola-Márquez et al., 2021) menunjukkan sejumlah isolat yang diidentifikasi secara makro dan mikroskopis menunjukkan kesamaan dengan bakteri *Azotobacter*. Penelitian (Kaburuan et al., 2014) melaporkan bahwa bakteri *Azotobacter* dapat bersifat gram variabel apabila berumur lebih dari dua minggu dimana yang awalnya bersifat gram negatif namun dapat berubah apabila bertambah lamanya waktu pertumbuhan. Isolat MPF yang di dapat pada penelitian ini bersifat Gram positif, sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Mukamto et al., 2015) yang menyebutkan bahwa Bakteri Pelarut Fosfat yang diperoleh setelah dilakukan pewarnaan gram bersifat Gram positif ditandai dengan perubahan warna pada dinding selnya menjadi ungu.

2. Pengujian Katalase dan Oksidase

Uji katalase merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui bersifat positif menunjukkan bahwa bakteri mempunyai enzim katalase untuk menguraikan H₂O₂ menjadi oksigen dan air. Adanya reaksi gelebung pada gelas objek menandakan terjadinya reaksi enzim tersebut. Berdasarkan hasil pengujian baik MPF ataupun bakteri *Azotobacter* menunjukkan adanya gelembung, hal ini sejalan dengan penelitian (Trawczyńska, 2020)

Pada pengujian oksidase tidak dapat dilakukan dikarenakan tidak adanya reagen uji oksidase yaitu *p-aminodimetilanilin oksalat*. Apabila pengujian ini dapat dilakukan, maka akan terlihat pengaruh reaksi bakteri terhadap reagen tersebut. Bakteri akan bereaksi positif terhadap reagen jika menunjukkan perubahan warna menjadi pink dan menunjukkan reaksi negatif jika warna terlihat ungu (Kohlenschmidt et al., 2021). Terjadi perubahan warna menjadi pink menunjukkan bahwa bakteri tersebut mempunyai enzim dehydrogenase (Kim & Yoo, 2022).

3. Pengujian Motilitas dan Kebutuhan O₂

Berdasarkan uji motilitas yang telah dilakukan didapatkan bahwa baik MPF ataupun *Azotobacter* motil. Hal ini dapat dilihat bahwa pertumbuhan bakteri tidak hanya pada bekas tusukan melainkan juga menyebar sampai ke atas media. Hasil tersebut menunjukkan bahwa

kedua bakteri mempunyai flagela yang bergerak menyebar baik disekitar daerah tusukan sampai ke bagian permukaan media.

Berdasarkan uji kebutuhan oksigen yang telah dilakukan didapatkan bahwa baik MPF ataupun *Azotobacter* menunjukkan pertumbuhan di bagian permukaan. Hal ini ditunjukkan dengan adanya kekeruhan pada permukaan media di dalam tabung reaksi, kekeruhan tersebut menandakan bahwa kedua bakteri uji merupakan bakteri aerob yang membutuhkan oksigen untuk hidup. Tabung reaksi yang ditutupi dengan kapas memungkinkan O₂ masuk ke dalam tabung namun jumlahnya terbatas sehingga bakteri aerob akan tumbuh di permukaan media untuk mendapatkan oksigen. Hal ini sebanding dengan hasil penelitian (Apriliya et al., 2020) yang menyatakan bahwa bakteri aerob yang tumbuh pada tabung uji akan dominan tumbuh di permukaan medium karena adanya pergerakan yang dilakukan oleh bakteri aerob untuk memperoleh oksigen di permukaan media tumbuh.

4. Pengujian pH, Fermentasi Glukosa dan Sukrosa

Hasil pengamatan ketahanan MPF dan *Azotobacter* terhadap rentang pH menunjukkan bahwa *Azotobacter* lebih tahan terhadap pH asam-basa yang ekstrim dengan rentang pH 3-9. Namun, pH optimum untuk *Azotobacter* berada pada 7-7,5 (Issa & Ramadhan, 2022). Sedangkan MPF tidak terlalu tahan dengan pH yang ekstrim, hal ini dapat dilihat pada hasil pengamatan bahwa MPF hanya dapat bertahan pada rentang pH 5-9. MPF tahan terhadap pH basa seperti saat penanaman kacang kedelai, petani selalu menambahkan kapur di tanah untuk menaikkan pH agar MPF dapat tumbuh optimal.

Pengujian gula-gula dilakukan untuk menemukan bakteri yang mampu memfermentasi karbohidrat. Sebagai contoh, ketika manitol digunakan untuk menguji gula-gula, warna ungu akan berubah menjadi kuning. Selain itu, reaksi fermentasi karbohidrat menyebabkan pembentukan gelembung gas di tabung Durham. Perubahan warna menunjukkan bahwa bakteri berfermentasi baik pada glukosa maupun sukrosa.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa *Azotobacter* mampu menggunakan glukosa dan sukrosa. Sedangkan MPF tidak dapat menggunakan baik glukosa maupun sukrosa. *Azotobacter* dapat menggunakan berbagai bentuk gula baik disakarida (sukrosa) maupun monosakarida. *Azotobacter* hidup bebas di tanah, tersedianya sumber makanan sangat tergantung pada kondisi lingkungan. Kebutuhan makanan oleh *Azotobacter* tidak tergantung hanya pada satu jenis sumber makanan, bakteri ini memiliki enzim-enzim yang dapat bekerja pada kondisi sumber makanan yang beragam. Setelah pengujian diketahui bahwa MPF tidak dapat menggunakan glukosa dan sukrosa. Berbagai literatur menerangkan bahwa media pertumbuhan untuk MPF biasa menggunakan manitol sebagai sumber makanannya. Manitol merupakan sumber yang paling disukai oleh Mikrob Pelarut Fosfat (Suleimanova et al., 2023). Menurut (Zhang et al., 2019) beberapa jenis Mikrob Pelarut Fosfat yang tumbuh lambat, pertumbuhannya akan lebih baik bila menggunakan sumber karbon yang tepat. Glukosa dan sukrosa merupakan karbohidrat kompleks yang kemungkinan sulit untuk dimanfaatkan oleh MPF yang terbiasa hanya memanfaatkan manitol.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pengujian karakterisasi morfologi dan fisiologi terhadap Mikrob Pelarut Fosfat (MPF) dan Mikrob Penambat N₂ (*Azotobacter*) berdasarkan literatur menunjukkan bahwa karakter hasil pengujian tersebut merupakan karakter Mikrob Pelarut Fosfat (MPF) dan *Azotobacter*.

Referensi

- Antriana, N. (2014). Isolasi bakteri asal saluran pencernaan rayap pekerja (*Macrotermes* spp.). *Saintifika*, 16(1), 18–28.
- Apriliya, I., Prasetyo, D., & Selvany, R. (2020). Isolasi Bakteri Rhizosfer Resisten Pestisida dan Herbisida pada Berbagai Jenis Tutupan Lahan. *Agrotekma: Jurnal Agroteknologi Dan Ilmu Pertanian*, 5(1), 64–71.
- Bonnet, M., Lagier, J. C., Raoult, D., & Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34, 100622.
- Erfin, E., Sandiah, N., & Malesi, L. (2016). Identifikasi Bakteri *Azospirillum* Dan *Azotobacter* Pada Rhizosfer Asal Komba-komba (*Chromolaena Odorata*). *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Peternakan Tropis*, 3(2), 30–38.
- Fan, Y., Qiao, J., Lu, Z., Fen, Z., Tao, Y., Lv, F., Zhao, H., Zhang, C., & Bie, X. (2020). Influence of different factors on biofilm formation of *Listeria monocytogenes* and the regulation of *cheY* gene. *Food Research International*, 137, 109405.
- Guardiola-Márquez, C. E., Figueroa-Montes, M. L., Pacheco Moscoa, A., & Senés-Guerrero, C. (2021). Native microbial consortia improve maize shoot and root systems at early developmental stages in a seedbed assay. *Scientia Fungorum*, 51, 1329.
- Hala, Y., & Arifin, A. N. (2021). Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit dari Batang dan Akar Tanaman Mimba. *Indonesian Journal of Fundamental Sciences Vol*, 7(2), 67–76.
- Irza, D. A., Lister, I. N. E., Sihotang, S., & Fachrial, E. (2021). Isolation, Characterization, Molecular Identification of Probiotic Bacteria from Meconium. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 755(1), 12041.
- Issa, F. A., & Ramadhan, Z. K. (2022). The Screening *Azotobacter* Spp., Bioavailability from Four Ecological Systems in Zakho Town, Kurdistan Region–Iraq. *Science Journal of University of Zakho*, 10(4), 175–180.
- Kaburuan, R., Hapsoh, H., & Gusmawartati, G. (2014). Isolasi dan karakterisasi bakteri penambat nitrogen non-simbiotik tanah gambut Cagar Biosfer Giam Siak Kecil-Bukit Batu. *Jurnal Agroteknologi*, 5(1), 35–39.
- Kim, D.-M., & Yoo, S.-M. (2022). Colorimetric systems for the detection of bacterial contamination: Strategy and applications. *Biosensors*, 12(7), 532.
- Kohlerschmidt, D. J., Mingle, L. A., Dumas, N. B., & Nattanmai, G. (2021). Identification of aerobic Gram-negative bacteria. In *Practical handbook of microbiology* (pp. 59–70). CRC Press.
- Lainjong, E. (2024). Identification of Air Bacteria Using Gram Style Methods in The Integrated Laboratory of Bina Mandiri University Gorontalo. *West Science Interdisciplinary Studies*, 2(02), 485–494.
- Lestari, P. B., & Hartati, T. W. (2017). *Mikrobiologi Berbasis Inquiry*. Penerbit Gunung Samudera [Grup Penerbit PT Book Mart Indonesia].

- Mergypta, D., Budiharjo, A., & Kusdiyantini, E. (2014). Isolasi, karakterisasi bakteri asam laktat, dan analisis proksimat dari pangan fermentasi rusip ikan teri (*Stolephorus* sp.). *Jurnal Akademika Biologi*, 3(2), 11–19.
- Mukamto, M., Ulfa, S., Mahalina, W., Syauqi, A., Istiqfaroh, L., & Trimulyono, G. (2015). Isolasi dan karakterisasi *Bacillus* sp. pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman Leguminosae. *Sains Dan Matematika*, 3(2), 62–68.
- Panjaitan, F. J., Bachtiar, T., Arsyad, I., Lele, O. K., & Indriyani, W. (2020). Karakterisasi mikroskopis dan uji biokimia bakteri pelarut fosfat (bpf) dari rhizosfer tanaman jagung fase vegetatif. *CIWAL (Jurnal Ilmu Pertanian Dan Lingkungan)*, 1(1), 9–17.
- Prastio, R. A., Isnawati, I., & Rahayu, D. A. (2022). Isolasi, Karakterisasi, dan Identifikasi Bakteri Patogen pada Tumbuhan Kantong Semar (*Nepenthes gracillis*). *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 11(2), 255–262.
- Rosita, R., Apriana, E., Hazra, F., & Eris, D. D. (2023). Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria from Three Types of Soil Rhizosphere and Their Potency to Increase Growth of Corn Plants (*Zea mays*). *Jurnal Ilmiah Biologi Eksperimen Dan Keanekaragaman Hayati (J-BEKH)*, 10(1), 30–39.
- Suleimanova, A., Bulmakova, D., Sokolnikova, L., Egorova, E., Itkina, D., Kuzminova, O., Gizatullina, A., & Sharipova, M. (2023). Phosphate solubilization and plant growth promotion by *Pantoea brenneri* soil isolates. *Microorganisms*, 11(5), 1136.
- Trawczyńska, I. (2020). New method of determining kinetic parameters for decomposition of hydrogen peroxide by catalase. *Catalysts*, 10(3), 323.
- Walida, H., Harahap, F. S., Hasibuan, M., & Yanti, F. F. (2019). Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil IAA dan pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman kelapa sawit. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, 6(1), 1–7.
- Wang, Z., Chen, Z., & Fu, X. (2019). Integrated effects of co-inoculation with phosphate-solubilizing bacteria and N₂-fixing bacteria on microbial population and soil amendment under C deficiency. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 16(13), 2442.
- Yulitaasary, A. T., Asyiah, I. N., & Iqbal, M. (2017). Isolasi dan identifikasi *Azotobacter* dari rhizosfer tanaman kopi (*Coffea canephora*) yang terserang nematoda parasit *Pratylenchus coffeae*. *Saintifika*, 19(2), 13–23.
- Zendhabad, A., Aini, L. Q., & Abadi, A. L. (2017). Eksplorasi Rizobakteri Pada Gulma Famili Solanaceae Untuk Pengendalian Penyakit Layu Bakteri Pada Tanaman Tomat. *Jurnal HPT (Hama Penyakit Tumbuhan)*, 5(3), 98–103.
- Zhang, T., Hu, F., & Ma, L. (2019). Phosphate-solubilizing bacteria from safflower rhizosphere and their effect on seedling growth. *Open Life Sciences*, 14(1), 246–254.
- Zikmanis, P., Kolesovs, S., & Semjonovs, P. (2020). Production of biodegradable microbial polymers from whey. *Bioresources and Bioprocessing*, 7(1), 36.