

KARAKTERISASI DAN VIABILITAS BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN BAKTERI PELARUT FOSFAT DALAM MEDIA PEMBAWA BIOCHAR

Characteristic and Viability of Nitrogen Fixation Bacteria and Phosphate Solubilizing Bacteria in Biochar Carrier Media

Sarah Sakinah Umadi¹⁾*, Satriyas Ilyas²⁾ dan Rahayu Widyastuti³⁾

¹⁾ Program Studi Ilmu dan Teknologi Benih, Sekolah Pascasarjana IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

²⁾ Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

³⁾ Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian IPB, Jl. Meranti Kampus IPB Dramaga, Bogor 16680

ABSTRACT

A consortium of nitrogen-fixing bacteria and phosphate solubilizers serves as biological fertilizers to increase the availability of plant nutrients such as nitrogen (N) and phosphorus (P). The experiment aimed to study the character of nitrogen-fixing bacteria and phosphate solubilizing bacteria and compare their viability on the biochar (made from husk charcoal and corn cobs) as the carrier media. The experiment involved several tests, such as pathogenicity, nitrogen-fixing ability, phosphate solubilization ability on solid Pikovskaya media, compatibility, and viability. The results showed that KPB4 isolate were pathogenic to animals or humans. Nitrogen-fixing bacteria isolates, namely KBP1, KBP2, and KBP5, had N solubility (ppm) of 54.86, 77.79, and 76.28, respectively, and had NH₃ concentrations (mg L⁻¹) of 66.61, 94.46, and 92.63, respectively. Phosphate solubilizing bacteria isolate (BPF9) had a phosphate solubilization index of 1.14. Each isolate of nitrogen-fixing bacteria was compatible with BPF9. KBP5 consorted with BPF9 on corncob biochar carriers had higher bacteria populations (1.55 x 10⁸ CFU g⁻¹) after four weeks of storage than rice husk biochar.

Keywords: Biochar, consortium bacteria, nitrogen-fixing, phosphate solubilizing

ABSTRAK

Konsorsium bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat dapat dijadikan pupuk hayati untuk meningkatkan ketersediaan hara tanaman seperti nitrogen (N) dan fosfor (P). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakter dan kompatibilitas bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat serta membandingkan viabilitasnya dalam media pembawa yang berbeda, yaitu pada biochar berbahan arang sekam dan tongkol jagung. Penelitian ini terdiri dari uji patogenitas (uji hipersensitivitas dan uji aktivitas hemolitik), uji kemampuan penambatan nitrogen (uji Nessler), uji kemampuan melarutkan fosfat pada media Pikovskaya padat, uji kompatibilitas, dan uji viabilitas. Hasil penelitian menunjukkan isolat KPB4 merupakan patogen terhadap hewan atau manusia. Isolat bakteri penambat nitrogen KBP1, KBP2, dan KBP5 memiliki kelarutan N (ppm) masing-masing 54.86, 77.79, dan 76.28 serta memiliki konsentrasi NH₃ (mg L⁻¹) masing-masing 66.61, 94.46, dan 92.63. Bakteri pelarut fosfat isolat BPF9 memiliki indeks pelarutan fosfat sebesar 1.14. Masing-masing isolat bakteri penambat nitrogen kompatibel terhadap bakteri pelarut fosfat BPF9. Populasi isolat KBP5 yang dikonsorsiumkan dengan BPF 9 pada media pembawa biochar tongkol jagung memiliki populasi tertinggi yaitu 1.55 x 10⁸ CFU g⁻¹ setelah 4 minggu penyimpanan dibandingkan media pembawa biochar arang sekam.

Kata kunci: Biochar, bakteri konsorsium, penambat nitrogen, pelarut fosfat

PENDAHULUAN

Unsur nitrogen (N) dan fosfat (P) termasuk hara esensial bagi pertumbuhan tanaman serta dibutuhkan dalam jumlah yang banyak. Unsur hara N dibutuhkan dalam proses pembentukan dan pembesaran sel, penyusunan protein, sitoplasma, klorofil, dan komponen sel lainnya yang berperan penting dalam merangsang dan memperbaiki pertumbuhan vegetatif (Kraiser *et al.*, 2011). Unsur hara P dibutuhkan dalam pembelahan sel, transduksi sinyal, transfer energi (ATP), pembentukan biji, perkembangan akar, dan *nucleoprotein* (Jain dan Khichi, 2014).

Ketersediaan N dalam tanah rendah karena unsur hara tersebut mudah hilang melalui proses penguapan dan

pencucian. Selain itu, senyawa N dalam bentuk N₂ bebas di atmosfer tidak dapat langsung diserap oleh tanaman tingkat tinggi. Tumbuhan menyerap unsur nitrogen dari lingkungannya dalam bentuk senyawa ammonium (NH₄) dengan bantuan mikroorganisme tertentu yang dikenal sebagai bakteri penambat nitrogen (Hofman dan Cleemput, 2004). Unsur P di dalam tanah berikatan dengan koloid-koloid tanah sehingga membentuk senyawa kompleks sukar larut dan tidak dapat dimanfaatkan secara maksimal oleh tanaman (Richardson dan Simpson, 2011). Bakteri pelarut fosfat membantu melarutkan fosfat dalam bentuk terikat menjadi tersedia bagi tanaman.

Bakteri penambat nitrogen (BPN) dan bakteri pelarut fosfat (BPF) dapat pula berfungsi sebagai *plant*

*) Penulis Korespondensi: Telp. +6287822326703; Email: sarahumadi30@gmail.com

DOI: <http://dx.doi.org/10.29244/jitl.25.2.40-45>

growth promoting rhizobacteria (PGPR) sehingga dapat dijadikan salah satu solusi penerapan sistem budidaya yang ramah lingkungan dalam mengurangi penggunaan pupuk anorganik. Peranan PGPR dapat mensintesis fitohormon pemacu tumbuh, menyediakan serta memobilisasi penyerapan unsur hara, dan secara tidak langsung dapat menekan aktivitas patogen dengan cara menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit seperti antibiotik dan siderofor (Fraile *et al.*, 2015). Kemampuan BPF dapat memproduksi enzim fosfatase dan asam organik yang bisa meningkatkan kemampuan pelarutan fosfat yang tidak tersedia menjadi tersedia yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Nitrogen yang melimpah dari atmosfer ditambah oleh BPN sehingga menjadi tersedia bagi tanaman (Rao, 1994).

Media pembawa merupakan faktor penting dalam proses inokulasi dengan memberikan lingkungan mikro yang sesuai bagi kelangsungan hidup mikroba (Elsas, 1992). Bila dibandingkan dengan media pembawa lumut dan vermikulit, media pembawa berbasis biochar lebih dapat mempertahankan populasi bakteri maksimum log 9.98 CFU g⁻¹ pada 180 hari setelah inokulasi dengan kadar air maksimum 20% (Ghazi, 2017). Penelitian ini bertujuan untuk mempelajari karakter dan kompatibilitas bakteri penambat nitrogen dan bakteri pelarut fosfat serta membandingkan viabilitasnya dalam media pembawa biochar dengan bahan yang berbeda, yaitu arang sekam dan tongkol jagung.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan Juli 2020 di Laboratorium Bioteknologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, dan Laboratorium Kesehatan Benih, Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Bahan utama dalam penelitian ini berupa isolat bakteri dan media pembawa. Isolat bakteri yang digunakan adalah bakteri penambat nitrogen (*Rhizobium* sp.) dan bakteri pelarut fosfat (*Pseudomonas* sp.). Bakteri *Rhizobium* sp. terdiri atas empat isolat yaitu KBP1, KBP2, KBP4, dan KBP5, yang diisolasi dari nodul akar kacang bamba lanras Sumedang testa coklat (Lupitasari *et al.*, 2020). Bakteri pelarut fosfat yang digunakan adalah isolat BPF9 yang diisolasi dari tanah (Sukmadewi *et al.*, 2017).

Media pembawa yang digunakan berupa biochar yang terdiri atas dua bahan dasar yaitu arang sekam dan tongkol jagung. Biochar arang sekam didapatkan dari kios pertanian. Biochar tongkol jagung yang digunakan merupakan hasil penelitian Ardiyani (2019) yang dibuat di Balai Penelitian Tanah, UPT Taman Bogo, Lampung Timur menggunakan metode pembakaran Adam Retord Klin (ARK).

Uji Patogenesitas

Uji patogenesitas bakteri menggunakan dua metode pengujian yaitu uji hipersensitivitas dan uji aktivitas hemolitik. Inokulum bakteri terlebih dahulu disiapkan dengan cara menumbuhkan bakteri pada media spesifiknya, isolat *Rhizobium* sp. ditumbuhkan pada media YEM (*yeast extract mannitol*) cair, sedangkan isolat BPF9 ditumbuhkan di media *Pikovskaya* cair. Komposisi media YEM cair yang

digunakan yaitu 0.5 g K₂HPO₄; 0.2 g MgSO₄; 0.1 g NaCl; 3 g CaCO₃; 10 g Mannitol; dan 3 g *yeast extract* dalam 1 L aquadest. Media *Pikovskaya* cair yang digunakan memiliki komposisi 10 g glukosa; 5 g Ca₃(PO₄)₂; 0.5 g (NH₄)₂SO₄; 0.2 g KCl; 0.1 g MgSO₄.7H₂O; 0.5 g *yeast extract*; 25 mg MnSO₄; dan 25 mg FeSO₄ dalam 1 L akuades. Biakan diinkubasi dalam *shaker* selama 24 jam pada suhu 27°C dengan kecepatan 150 rpm hingga populasi bakteri mencapai ± 10⁷ CFU ml⁻¹.

Uji hipersensitivitas dilakukan dengan menginokulasikan isolat bakteri ke jaringan daun tanaman tembakau dengan cara disuntikkan (tanpa jarum) menggunakan *syringe* volume 1 ml. Hasil diamati setelah 72 jam untuk melihat potensi bakteri sebagai patogen tanaman. Hasil positif ditandai dengan adanya kerusakan jaringan tanaman yang ditandai dengan perubahan warna daun menjadi kuning, kemudian diikuti dengan kerusakan jaringan tanaman, sedangkan hasil negatif jika tidak ada perubahan/kerusakan pada jaringan helai tanaman (Wick, 2010).

Uji aktivitas hemolitik dilakukan untuk menguji patogenitas terhadap hewan dan manusia menggunakan media *blood* agar yang berasal dari darah domba. Kultur isolat ditumbuhkan pada media *blood* agar dengan metode *streak plate* dan diinkubasi selama 2 x 24 jam. Hasil positif ditandai dengan adanya lisis pada media baik sebagian atau keseluruhan, sedangkan hasil negatif jika isolat tetap tumbuh dan tidak menyebabkan lisis (Buxton, 2005).

Uji Kemampuan Penambatan Nitrogen

Uji kemampuan bakteri penambat nitrogen dengan menghitung amonium terlarut pada supernatan medium YEM cair. Isolat murni ditumbuhkan dalam tabung Enlenmeyer yang berisi 29 ml medium YEM cair, kemudian diinkubasi dalam *shaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 24 jam pada suhu 27°C hingga populasi bakteri mencapai ± 10⁷ CFU ml⁻¹. Setelah diinkubasi, inokulan disentrifugasi pada kecepatan 2,500 rpm selama 25 menit. Sebanyak 3 ml supernatan diambil dan diatur ke pH 11 dengan penambahan NaOH 1N kemudian ditambahkan 0.07 ml EDTA, 0.07 ml sodium potassium tartarat, dan 0.13 ml reagen Nessler lalu dihomogenkan dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 25°C. Selanjutnya, absorbansi diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 435 nm dan dibandingkan dengan larutan standar ammonium (Hartono *et al.*, 2009).

Uji Kemampuan Melarutkan Fosfat

Kemampuan bakteri melarutkan fosfat diukur berdasarkan indeks pelarutan fosfat pada media padat dengan sumber fosfat sukar larut Ca₃(PO₄)₂. Komposisi media *Pikovskaya* adalah 10 g glukosa, 5 g Ca₃(PO₄)₂, 0.5 g (NH₄)₂SO₄, 0.2 g KCl, 0.1 g MgSO₄.7H₂O, 0.5 g ekstrak khamir, 25 mg MnSO₄, 25 mg FeSO₄, dan 20 g agar dalam 1 L akuades. Pada pengujian *Pikovskaya* pembentukan zona bening, isolat bakteri berumur 24 - 48 jam diambil sedikit dengan menggunakan ose bakteri lalu diinokulasikan pada media padat *Pikovskaya*. Inkubasi dilakukan selama 7 hari pada suhu 28°C. Indeks Pelarutan (IP) fosfat diukur berdasarkan rumus:

$$IP = \frac{\text{diameter zona bening} + \text{diameter koloni}}{\text{diameter koloni}}$$

Uji Kompatibilitas antara Bakteri Penambat Nitrogen dan Bakteri Pelarut Fosfat

Pengujian kompatibilitas bakteri bertujuan untuk mengetahui kedua bakteri tersebut dapat tumbuh bersamaan atau saling menghambat aktivitas bakteri lain (Bailey *et al.*, 2006). Uji kompatibilitas mengacu pada penelitian Asih *et al.* (2017) yang menggunakan metode *dual culture*. Suspensi BPF 0.1ml disebar pada media *nutrient agar* (NA) (dengan komposisi 5 g peptone, 2 g *yeast extract*, 5 g sodium chloride, 15 g agar, dan 1 L akuadest). Kemudian kertas saring berdiameter 5 mm ditempelkan di atas media tersebut dan ditetesi 0.01 ml suspensi BPN. Sebagai pembanding dilakukan juga pengujian dengan menukar posisi antara dua jenis bakteri yang diuji (Venkadesan dan Sumathi, 2015). Bakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari dan diamati muncul tidaknya zona bening di sekitar kertas saring. Zona bening yang terbentuk menandakan bahwa bakteri penambat N dan bakteri pelarut P tidak kompatibel.

Uji Viabilitas Bakteri dalam Media Pembawa

Pengujian viabilitas dilakukan pada dua kombinasi BPF dan BPN yang kompatibel dan memiliki nilai penambatan N tertinggi. Isolat bakteri diperbanyak dengan cara membiakan bakteri pada 50 ml NB selama 48 jam dalam kondisi dikocok menggunakan *shaker* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu 27°C. Koloni bakteri yang terbentuk diatur kerapatannya hingga mencapai 10^9 - 10^{11} CFU ml⁻¹ (Santi dan Goenadi, 2010).

Dua jenis media pembawa yaitu arang sekam dan biochar dihaluskan hingga lolos saringan 0.5 mm. Sebanyak 30 g media pembawa dimasukkan ke dalam kantong plastik polypropylene (tahan panas) dan disterilisasikan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C, tekanan 1 atm, selama 1 jam, dan dilakukan sebanyak dua kali dengan jarak 24 jam (Tittabutr *et al.*, 2012). Isolat bakteri diinokulasi ke dalam media pembawa dan menjadi formula bakteri, lalu disimpan selama satu bulan pada suhu ruang. Viabilitas bakteri diuji setiap satu minggu sekali. Perhitungan total populasi mikroba yang dilakukan dengan metode *total plate count* pada media NA. 1 g formula bakteri dimasukkan ke dalam 9 ml larutan fisiologis (NaCl 0.85%), dikocok menggunakan *shaker* selama 30 menit dan dibuat seri pengenceran hingga pengenceran 10^{-8} . Suspensi dari empat seri pengenceran terakhir yaitu 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , dan 10^{-8} diinokulasi dalam media NA secara *spread plate*. Biakan selanjutnya diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam, kemudian total populasi mikroba dihitung. Penghitungan jumlah total populasi dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Total Populasi} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{ml}} \right) = \frac{a}{V} \times \frac{1}{df}$$

CFU : colony forming unit
 a : rata-rata jumlah koloni/cawan
 df : faktor pengenceran
 V : volume suspensi yang dibiakkan

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji Patogenitas

Lima isolat bakteri yang diuji sifat patogenitasnya pada tanaman tembakau menunjukkan respon negatif. Respon negatif ditandai dengan tidak adanya gejala penyakit atau kerusakan jaringan tanaman (nekrosis) pada bagian yang diinokulasi. Hal ini menunjukkan bahwa kelima isolat bakteri yang diuji tidak termasuk dalam kelompok patogen terhadap tanaman. Hasil uji aktivitas hemolitik pada media *blood agar* menunjukkan bahwa 4 isolat yaitu KBP1, KBP2, KBP5, dan BPF9 tidak menyebabkan hemolisis pada media dengan ditandai tetap tumbuhnya isolat bakteri tanpa menyerap, membentuk zona hambat, atau melisis media. Berbeda halnya dengan isolat KBP4, media di sekitar koloni terbentuk zona bening yang menunjukkan hasil positif. Zona bening yang terbentuk menunjukkan bahwa isolat tersebut melisis sel darah merah sehingga isolat berpotensi sebagai patogen terhadap hewan. Hemolisis diakibatkan oleh infeksi yang terjadi akibat respon inflamasi yang memproduksi sitokin proinflamasi, mengaktifkan komplemen, dan komponen komplemen C5-C9 membentuk *membrane attack complex* (MAC) menyebabkan cedera membran sel yang berakibat lisis (Bauman, 2007).

Kemampuan Bakteri Menambat Nitrogen

Bakteri penambat nitrogen dapat mengikat nitrogen bebas di udara dan mereduksinya menjadi senyawa amonia (NH₄) dan ion nitrat (NO₃⁻) oleh bantuan enzim nitrogenase. Produksi amonia pada BPN dapat diukur dengan metode Nessler, amonium yang terkandung dalam biakan bakteri akan bereaksi dengan reagen Nessler sehingga terjadi perubahan warna sesuai dengan kandungan amonia (NH₃). Tiga isolat bakteri yang diuji-dapat menambat N dengan nilai kelarutan N dan konsentrasi NH₃ yang berbeda-beda. Konsentrasi tertinggi terdapat pada isolat KBP2 dengan kelarutan N sebesar 77.79 ppm dan konsentrasi NH₃ 94.46 mg L⁻¹, sedangkan isolat KBP4 mempunyai kelarutan N terendah 47.71 ppm dengan konsentrasi NH₃ 57.94 mg L⁻¹. Perbedaan nilai kelarutan N dan konsentrasi NH₃ dikarena aktivitas nitrogenase pada setiap isolat bakteri yang berbeda-beda. Aktivitas nitrogenase memiliki hubungan yang linier dengan konsentrasi nitrogenase dalam sampel. Semakin tinggi konsentrasi nitrogenase maka aktivitas nitrogenase pun akan semakin tinggi (Hardy *et al.*, 1996). Selain itu, sumber karbon yang berbeda dapat mempengaruhi kemampuan sel bakteri dalam mengeksresikan amonium (Iwata *et al.*, 2012).

Kemampuan Bakteri Melarutkan Fosfat

Indeks pelarutan (IP) merupakan perbandingan antara diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri. Pengukuran IP fosfat dilakukan pada media *Pikovkaya* padat dengan sumber P sukar larut berupa trikalsium fosfat (Ca₃PO₄) sehingga bahan berwarna putih dan tidak larut dalam air. Hal ini yang menjadikan media *Pikovkaya* sebagai media indikator untuk seleksi mikrob yang dapat melarutkan fosfat dan kalsium. Zona bening (*halo zone*) yang terbentuk di sekeliling koloni terbentuk karena bakteri pelarut fosfat mampu mensekresikan asam-

asam organik yang dapat mengubah P yang tidak larut menjadi larut (Suliasih dan Rahmat, 2007).

Isolat BPF9 dapat membentuk zona bening di sekeliling koloninya pada media Pikovskaya dengan indeks kelarutan fosfat sebesar 1.14. Zona bening yang dihasilkan oleh isolat BPF9 menandakan bahwa isolat tersebut dapat memutuskan ikatan antara kalsium yang berikatan dengan fosfat pada media *Pikovskaya* yang mengandung trikalsium fosfat. Asam organik dan enzim fosfatase yang dihasilkan oleh mikroba bereaksi dengan $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sehingga dapat melepaskan P yang terikat pada media, rekasi tersebut membentuk khelat organik dari Ca sehingga P terbebas dan larut membentuk area yang berwarna jernih (Hafsari dan Pertiwi, 2017).

Uji Kompatibilitas antara Bakteri Penambat Nitrogen dan Bakteri Pelarut Fosfat

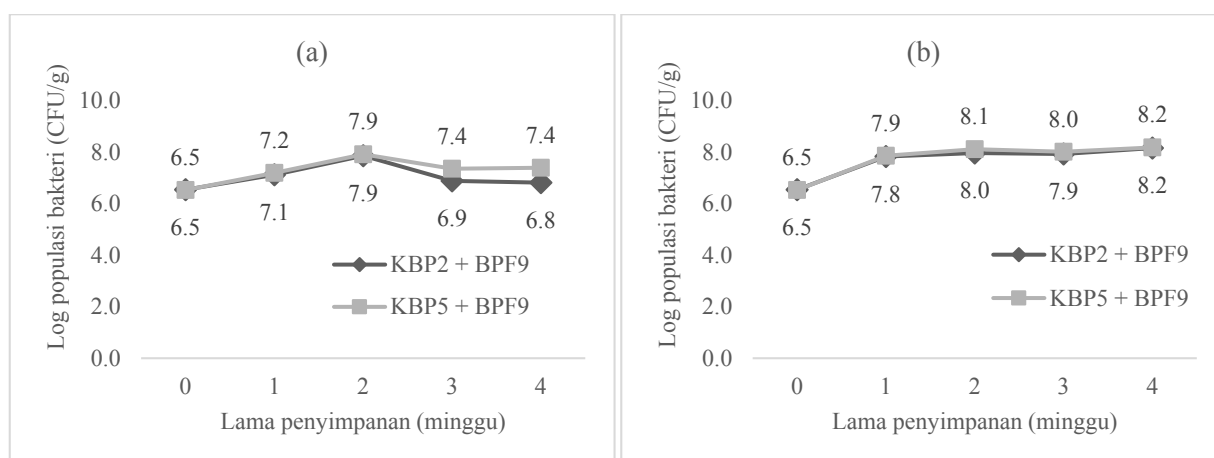
Kombinasi bakteri dapat meningkatkan produksi enzim dari masing-masing isolat sehingga dapat meningkatkan laju pertumbuhan dan memiliki aktivitas metabolisme yang saling mendukung pertumbuhan isolat (Bailey *et al.*, 2006). Pengujian kompatibilitas bakteri bertujuan untuk mengetahui kedua bakteri tersebut dapat tumbuh bersamaan atau saling menghambat aktivitas bakteri lain. Bakteri yang bersinergis ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram. Terbentuknya zona bening di sekitar kertas cakram menandai bahwa adanya bakteri yang bersifat protagonis. Bakteri yang berada pada kertas cakram menghambat pertumbuhan bakteri yang berada pada media agar. Zona bening terbentuk karena adanya persaingan nutrisi, persaingan wilayah hidup, atau menghasilkan metabolit sekunder yang menghambat bakteri lain. Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan, diperoleh tiga pasangan kombinasi bakteri yang kompatibel antara bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat yaitu, isolat KBP1 + BPF9, KBP2 + BPF9 dan isolat KBP5 + BPF9.

Viabilitas Bakteri dalam Media pembawa Biochar Berbahan Dasar Arang Sekam dan Tongkol Jagung

Dua kombinasi isolat bakteri yang terpilih (KBP2 + BPF9 dan KBP5 + BPF9) yang kompatibel dan memiliki nilai penambahan N tertinggi diuji viabilitasnya dalam media pembawa yang berbeda. Media pembawa yang digunakan berupa biochar dengan bahan dasar berbeda yaitu arang sekam dan tongkol jagung. Media pembawa biochar tongkol jagung dapat mempertahankan populasi bakteri sampai dengan $\log 8.19 (1.55 \times 10^8)$ CFU g^{-1} sedangkan pada biochar arang sekam sampai dengan $\log 7.9 (8.3 \times 10^7)$ CFU g^{-1} . Populasi bakteri pada biochar arang sekam dan biochar tongkol jagung mengalami kenaikan pada minggu pertama dan kedua, namun pada biochar arang sekam mengalami penurunan pada minggu ketiga. Populasi bakteri yang diujikan pada kedua media pembawa hingga minggu keempat belum stabil atau mengalami fluktuatif (Gambar 1).

Total populasi pada biochar tongkol jagung tinggi karena media pembawa tersebut memiliki *water holding capacity* (WHC) (168%) yang lebih tinggi dibandingkan biochar arang sekam (156.66%) (Husna *et al.*, 2019). Menurut Arora *et al.* (2014) semakin tinggi WHC pada media pembawa maka semakin banyak populasi bakteri yang dapat tumbuh. Lehmann *et al.* 2011 menambahkan kadar air pada level 40% atau lebih merupakan level optimum untuk aktivitas mikroba. Menurut Ghazi (2017) media pembawa biochar dapat mencapai populasi maksimum $\log 9.98 \text{ CFU g}^{-1}$ pada 180 hari setelah inokulasi dengan kadar air maksimum 20%.

Biochar tongkol jagung memiliki rata-rata diameter pori-pori (18.27 μm), kelembaban (32.58%), kadar air (41.99%), dan pH (10.7) yang lebih tinggi dibandingkan biochar arang sekam, tandan kelapa sawit, dan batok kelapa (Husna *et al.*, 2019). Menurut Iskandar dan Rofiatin (2017) biochar tongkol jagung memiliki kandungan hemiselulosa, kadar karbon terikat, dan nilai kalor yang cukup besar serta kadar abu, kadar air, dan kadar zat mudah menguap yang lebih rendah dibandingkan biochar arang sekam, bambu, dan tempurung kelapa. Semakin tinggi nilai kandungan karbon dalam biochar maka semakin baik kualitas biochar yang dimiliki.



Gambar 1. Populasi bakteri pada media pembawa (a) biochar arang sekam dan (b) biochar tongkol jagung selama 4 minggu penyimpanan pada media NA.

SIMPULAN

Isolat bakteri penambat nitrogen KBP1, KBP2, dan KBP5 memiliki kelarutan N (ppm) berturut-turut 54.86, 77.79, dan 76.28 serta konsentrasi NH_3 (mg L^{-1}) 66.61, 94.46, dan 92.63. Ketiga isolat bakteri penambat nitrogen yang terpilih memiliki hasil uji hipersensitivitas pada tembakau dan *blood agar* yang negatif sehingga aman digunakan. Isolat bakteri pelarut fosfat BPF9 memiliki indeks pelarutan fosfat sebesar 1.14. Masing-masing isolat bakteri penambat nitrogen kompatibel terhadap BPF9. Hasil menunjukkan populasi KBP5 yang dikonsorsiumkan dengan BPF9 pada media pembawa biochar tongkol jagung memiliki populasi bakteri yang lebih tinggi (1.55×10^8 CFU g^{-1}) setelah 4 minggu penyimpanan dibandingkan media pembawa biochar arang sekam.

DAFTAR PUSTAKA

- Ardiyani, N.P. 2019. Formulasi Bakteri Penambah Nitrogen dan Mikroba Pelarut Fosfat dengan Biochar sebagai Media Pembawa Pupuk Hayati pada Tanaman Jagung (*Zea mays*) [proposal penelitian]. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Arora, N.K., S. Tiwari and R. Singh. 2014. Comparative study of different carriers inoculated with nodule forming and free living plant growth promoting bacteria suitable for sustainable agriculture. *J. Plant Pathol Microb.*, 5(2): 1-3.
- Asih, P.R., M. Surahman dan Giyanto. 2017. Isolasi rhizobakteri dan pengaruh aplikasinya dengan pupuk N-P terhadap mutu benih dan pertumbuhan bibit tetua betina jagung. *J. Agron. Indonesia*, 45(3): 255-262.
- Bailey, M.J., A.K. Lilley, T.M. Timms-Wilson and T.M. Spencer-Phillips. 2006. *Microbial Ecology of Aerial Plant Surface*. CAB International. United Kingdom.
- Bauman, R. 2007. *Microbiology. With diseases by taxonomy*. Edisi ke- 2. Pearson Ed. Publ. New York (USA). p 437-57.
- Buxton, R. 2005. *Blood agar plates and hemolysis protocols*. American society for microbiology. p 1-9.
- Fraile, P.G., E. Menendez and R. Rivas. 2015. Role of bacterial biofertilizers in agriculture and forestry: a review. *AIMS Bioeng.*, 2(3): 183-205.
- Ghazi, A.A. 2017. Potential for biochar as an alternate carrier to peat moss for the preparation of Rhizobial bio inoculum. *Microbiol Res J Int.*, 18(4): 1-9.
- Hafsari, A.R. dan V.D. Pertiwi. 2017. Isolasi dan identifikasi kapang pelarut fosfat dari fosfat guano gua pawon. *Jurnal Biota: Biologi dan Pendidikan Biologi*, 10(2): 165-166.
- Hardy, R.W.F., R.D. Holsten, E.K. Ackson and R.C. Burns. 1996. The acetylene-etilen assay for N_2 fixation: Laboratory and field evaluation. *J. Plant Physiol.*, 43: 1185-1207.
- Hartono, J. Widada and S. Kabirun. 2009. 16s rRNA sequence analysis and ammonium excretion ability of nitrogen fixing bacteria isolated from mineral acid soil. *I. J. Biotech.*, 14(22): 1179-1187.
- Hofman, G. and O.V. Cleemput. 2004. *Soil and Plant Nitrogen*. International Fertilizer Industry. Paris (FR).
- Husna, H., D. Budianta, Munandar and A. Napoleon. 2019. Evaluation of several biochar types as inoculant carrier for indigenous phosphate solubilizing microorganism from acid sulphate soil. *J. Ecol. Eng.*, 20(6): 1-8.
- Iskandar, T dan U. Rofiatin. 2017. Karakteristik biochar berdasarkan jenis biomassa dan para meter proses pyrolysis. *Jurnal Teknik Kimia*, 12(1): 28-34.
- Iwata, K., S.S. Yu, A. Azlan and T. Omori. 2012. *Ammonia Accumulation of Novel Nitrogen-Fixing Bacteria. Biotechnology - Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*. InTech. Shanghai (CN).
- Jain, P. and D.S. Khichi. 2014. Phosphate solubilizing microorganism (PSM): an eco-friendly biofertilizer and pollution manager. *J. Dynamics Agri. Res.*, 1(4): 23-28.
- Kraiser, T., D.E. Gras, A.G. Gutierrez, B. Gonzalez and R.A. Gutierrez. 2011. A holistic view of nitrogen acquisition in plants. *J. Exp. Bot.*, 62(4): 1455-1466.
- Lehmann, J., M.C. Rillig, J. Thies, C.A. Masiello, W.C. Hockaday and D. Crowley. 2011. Biochar effects on soil biota - a review. *Soil Biol. Biochem.*, 43: 1812-1836.
- Lupitasari, E., R. Ruhimat, S.S. Umadi and L.A.A. Arumsari. 2020. Isolation and characterization of Rhizobium bacteria from various roots nodules legume crops. *Dalam: Kresnawaty, I., R.T. Saptari, F. Fitriyah dan S.F. Nuemila (ed.). Integrasi Bioteknologi Pertanian dan Perkebunan di Era Revolusi Industri 4.0. Seminar Nasional Bioteknologi; 2020 Okto 15-16. Bogor, Indonesia. Bogor: PPBI-PT Riset Perkebunan Nusantara. hlm 78-84*
- Rao, N.S.S. 1994. *Biofertilizer in Agricultura*. Oxford & IBH Pub. New Delhi (IN).
- Richardson, A.E. and R.J. Simpson. 2011. Soil microorganisms mediating phosphorus availability. *J. Plant Physiology*, 156: 989-996.
- Santi, L.P. dan D.H. Goenadi. 2010. Pemanfaatan biochar sebagai pembawa mikroba untuk pemantap agregat tanah Ultisol dari Taman Bogor-Lampung. *Menara Perkebunan*, 78(2): 52-60.
- Suliasih dan Rahmat. 2007. Aktivitas fosfatase dan pelarutan kalsium fosfat oleh beberapa bakteri pelarut fosfat. *Biodiversitas*. 8: 23-26.

- Sukmadewi, D.K.T., I. Anas, R. Widyastuti dan A. Citraresmini. 2017. Uji Fitopatogenitas, hemolisis serta kemampuan mikroba dalam melarutkan fosfat dan kalium. *J. Il. Tan. Lingk.*, 19(2): 68-73.
- Tittabutr, P., K. Teamthisong, B. Buranabanyat, N. Teaumroong and N. Boonkerd. 2012. Gamma irradiation and autoclave sterilization peat and compost as the carrier for rhizobial inoculant production. *J. Agric. Sci.*, 12: 59-67.
- Van Elsas, J.D.V., J.T. Trevors, D. Jain, A.C. Wolters, C.E. Heijnen and L.S. Van Overbeek. 1992. Survival of, and root colonization by, alginate-encapsulated *Pseudomonas fluorescens* cells following introduction into soil. *Biology and Fertility of Soils*, 14(1): 14-22.
- Venkadesan, D. and V. Sumathi. 2015. Screening of lactic acid bacteria for their antibacterial activity against milk-borne pathogens. *Intl. J. Appl. Res.*, 1(11): 970 -973.
- Wick, R. 2010. Tobacco hypersensitivity: the first test to screen bacteria for pathogenicity. *NPDN News*, 5(7): 3-4.
-