

- Penulis : Dra. Yanti Hamdiyati, M.Si.
- Judul : **Isolasi Mikroorganisme Tanah Penambat Nitrogen yang Bersimbiosis**
- Tujuan : – melakukan cara–cara isolasi mikroorganisme tanah penambat nitrogen yang bersimbiosis
- mengidentifikasi species bakteri penambat N berdasarkan karakteristik koloni

Teori Dasar

Kebanyakan tanaman Leguminosae pada akarnya membentuk nodul yang terjadi karena infeksi pada bulu akar oleh *Rhizobium*. Sel –sel *Rhizobium* ini mengambil makanan dari tanaman Leguminosae. Tetapi *Rhizobium* dapat mengikat nitrogen bebas dari udara yang biasa digunakan oleh tanaman, karena itu terjadi hubungan simbiosis mutualistis. *Rhizobium* , yang disebut bakteroid bila terdapat di dalam sel tumbuhan, dapat dibedakan karena bentuknya yang pleomorphisme. *Rhizobium* memperlihatkan bentuk susunan sel yang bervariasi seperti bentuk X, Y, T, V dan stellate.

Alat dan Bahan

- Lampu spiritus
- Lup inokulasi
- Cawan petri
- Mikroskop
- Objek glas dan kaca penutup
- Silet
- Nodul dari berbagai tanaman Leguminosae
- Medium yeast manitol broth (YMB) 50 ml dalam erlenmeyer
- Agar diri yeast manitol agar (YMA) 1 tabung
- Alkohol 70%
- Reagent pewarnaan gram dan sederhana

Cara Kerja

Kegiatan I :

1. Pilih nodul- nodul yang baik, cuci bersih dengan air.
2. Cuci bersih dengan alkohol 70% dalam cawan petri.
3. Buat sayatan dari nodul dan tanamkan pada medium YMB.
4. Inkubasikan kultur selama 3 – 6 hari pada suhu kamar.
Erlenmeyer berisi kultur bakteri digoyang !
6. Setelah terlihat adanya pertumbuhan dalam YMB, tanamkan pada medium YMA dalam cawan petri.
7. Inkubasikan 1 – 2 x 24 jam pada suhu kamar.
8. Amati karakteristik koloni yang tumbuh pada YMA.
9. Lakukan pewarnaan Gram.

Kegiatan II :

1. Pisahkan nodul dari akar tanaman Leguminosae dan bersihkan dengan air.
2. Hancurkan beberapa nodul dengan menggunakan dua kaca objek bersih.
3. Ambil satu lup suspensi nodul dan sebarkan pada kaca objek bersih sampai terbentuk lapisan tipis.
4. Keringkan di udara.
5. Lakukan fiksasi panas dengan melewatkan sediaan mikroskopis di atas api sebanyak tiga kali.
6. Warnai sediaan dengan metilen biru selama satu menit.
7. Bilas dengan air dari botol semprot.
8. Keringkan di udara atau dengan menggunakan kertas isap.
9. Amati di bawah mikroskop pembesaran 1000 x.
10. Bandingkan hasil yang didapatkan pada kegiatan I dan II.

Kegiatan III (Uji Motilitas) :

1. Dengan menggunakan jarum inokulasi, ambil koloni bakteri yang tumbuh pada medium YMA.
2. Lakukan inokulasi tusuk pada medium agar diri KNA.
3. Inkubasikan 24 jam, amati karakteristik pertumbuhan koloninya.

Hasil Pengamatan

Kegiatan	Hasil
<p style="text-align: center;">I</p> <p>a. dalam medium YMA</p> <p>b. dalam medium YMB</p> <ul style="list-style-type: none"> – bentuk koloni – warna koloni – kepekatan – dan lain-lain <p>c. pewarnaan Gram (gambar)</p> <p>d. uji motilitas</p>	
<p style="text-align: center;">II</p> <p>Pewarnaan sederhana (gambar)</p>	

Pertanyaan :

1. Jelaskan apa yang dimaksud dengan fiksasi nitrogen !
2. Sebutkan mikroorganisme lainnya yang dapat melakukan fiksasi nitrogen yang bersimbiosis!

