

**METODE PERBANYAKAN *Azotobacter* sp. DENGAN MEDIA CAIR DI KANTOR KOORDINATOR PTPH BOJONEGORO****Nur Maulidah<sup>1</sup>, Fita Fitriatul Wahidah<sup>2\*</sup>**<sup>1,2</sup>Program Studi Biologi, Universitas Billfath, Lamongan.**Corresponding Author** : \*085771922797;[fita.agro97@gmail.com](mailto:fita.agro97@gmail.com)**Abstract**

This study aimed to determining how the production process of *Azotobacter* sp. using liquid media as the biological agent of *Azotobacter* sp. *Azotobacter* sp. is a nitrogen fixing bacteria as fertilizer of soil. *Azotobacter* sp. including natural biological agents that are environmentally. The process production of the biological agent was used liquid media from soybean which carried out in the coordinator office of PTPH bojonegoro. The result showed that propagation of *Azotobacter* sp. can be done with the stages of making bacterial isolation on *Natrium Agar* (NA) and making liquid media with soybean (based ingredients). The calculation method using the TPC method is done by counting the number of bacterial colonies that appear on the petridish. From the results of the calculation of the TPC the average number is  $3,8 \times 10^8$ , showed that is feasible to be used as an effective growth regulator fertilizer.

**Keyword** : Biofertilizer, *Azotobacter* sp. TPC (*Total Plate Count*)**How to cite**: Maulidah. N., Wahidah. F. F., (2021). *Metode Perbanyakan azotobacter sp. dengan Media Cair di Kantor Koordinator PTPH Bojonegoro*. JMS (*Jurnal Matematika dan Sains*), 1(2), pp.75-80.

---

**PENDAHULUAN**

Penggunaan bahan-bahan kimia dalam pertanian hingga saat ini masih terus-menerus dilakukan oleh para petani. Bagi petani sudah menjadi suatu kewajiban untuk menggunakan pupuk dan pestisida yang berbahan kimia (non organik). Sedangkan di sisi lain pemerintah selalu menekankan PHT (Pengendalian Hama Terpadu). Salah satu tindakan yang menerapkan PHT adalah dengan penggunaan pupuk organik yang berasal dari agen hayati (Harsono, 2009). Agen hayati adalah pengolahan suatu organisme tertentu baik itu bakteri, cendawan, nematoda, dan protozoa yang dapat mengatur perkembangan hama penyakit organisme pengganggu tanaman (Estuningtyas, 2014). Agen hayati termasuk alternatif yang baik untuk mengurangi ketergantungan dan bahan yang digunakan termasuk bahan organik yang diolah menjadi anorganik bagi tanaman untuk menyerap nitrogen serta melarutkan fosfat untuk meningkatkan unsur hara yang

tersedia di dalam tanah (Firdausi & Muslihatin, 2016)

*Azotobacter* sp. adalah salah satu agen hayati alami. *Azotobacter* sp. merupakan pengikat nitrogen yang ada pada tubuhnya dan disebar pada tanah. *Azotobacter* sp. dapat mengikat nitrogen diudara secara bebas, pengikatan nitrogen juga dapat menyuburkan tanaman selain itu *Azotobacter* sp. juga dapat menjadi patogen bagi tanaman untuk pertumbuhan dan hasil tanaman. *Azotobacter* sp. penambat nitrogen dapat meningkatkan penyerapan mineral, mengurangi kerusakan yang diakibatkan cuaca, tanaman tahan terhadap penyakit (Rahmi, 2014).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui bagaimana proses produksi *Azotobacter* sp. dengan menggunakan media cair dengan bahan utama kedelai. Selain itu dilakukan perhitungan koloni bakteri untuk uji kelayakan *Azotobacter* sp. di lapang. Metode perhitungan menggunakan TPC (*Total Plate Count*).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan

Alat. Alat tulis, buku catatan, kamera, jas laboratorium, Tabung Reaksi, Gelas Beker, Hot Plate, Rak Tabung, Bunsen, Corong, Galon, Autoklav, Kapas, Plastik werb, Tali Karet, Alat Fermentor, Kompor Gas, Timbangan Analitik, Panci, Saringan, Cawan Petri, vortex maxer, magnetic stirrer, blue tip, kertas label, mikropipet, jarum OSE, LAF (*Laminar Air Flow*), pipet filler.

Bahan. Isolate bakteri *Azotobacter* sp.(F1), media NA (*Natrium Agar*) miring, kedelai, susu sachet atau susu skim, gula pasir, media PCA (*Plate Count Agar*), aquades.

### Metode Perbanyakan

Proses pembuatan agen hayati *Azotobacter* sp. yang dilakukan di Kantor Koordinator PTPH Bojonegoro secara in vitro, dimulai dari pembuatan media NA (*Natrium Agar*) kemudian disterilkan menggunakan autoklav, tahapan selanjutnya adalah streak bakteri ke dalam tabung reaksi yang sudah ada media NA(*Natrium Agar*) miring, setelah itu di inkubasi di dalam inkubator selama 2 hari. Isolat *Azotobacter* sp. selanjutnya siap dibiakkan dalam media cair, kemudian dilakukan proses pengenceran dan perhitungan TPC (*Total Plate Count*).

## Analisis Data

Data didapat dari hasil pengamatan langsung di laboratorium. Data dianalisis secara deskriptif yang kemudian disajikan dalam bentuk tabel dan foto

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### a. Metode Perbanyakkan *Azotobacter* sp. pada Media Cair

Terdapat berbagai macam cara atau metode dalam perbanyakkan agen hayati. Pada penelitian ini metode perbanyakkan yang digunakan adalah dengan menggunakan media cair yang berbahaan dasar kedelai. Setelah bakteri *Azotobacter* sp. dibuat di media NA (*Natrium Agar*) dan siap untuk dibiakkan maka tahapan selanjutnya adalah proses pembuatan media cair. Tahapan pembuatan media cair diuraikan sebagai berikut:

1. Kedelai direbus dengan air dan dicampur susu kental manis atau susu skim, gula pasir dilarutkan kedalam air mendidih kemudian sari kedelai disaring dan dimasukkan ke dalam galon yang berisi 9 liter air.
2. Dua isolat bakteri *Azotobacter* sp. dimasukkan ke dalam galon kemudian galon ditutup serta diberi selang yang sudah disambungkan dengan alat fermentor selama 5 hari.
3. Disiapkan 9 tabung reaksi dan diisi dengan aquades sebanyak 9 ml. Kemudian ditutup dan dimasukkan kedalam plastik ukuran 1 kg untuk disterilisasi menggunakan autoklav.
4. Untuk pembuatan media PCA (*Plate Count Agar*) : ditakar 22,5 gram dan dicairkan dengan aquades 1 liter/ 1000 ml.
5. Pengenceran: diambil sample agen hayati 1 ml dengan mikropipet dan dicampurkan pada tabung reaksi yang sudah berisi aquades 9 ml, diaduk menggunakan vortex maxer agar tercampur rata. Dari tabung pertama diambil 1 ml untuk dicampurkan pada tabung kedua dan seterusnya sampai pengenceran ke Sembilan. Saat pengenceran dari tabung reaksi ke 5, 7 dan 9 diambil 1 ml dan ditempatkan pada cawan petri. Setelah media PCA sudah siap lalu dituangkan pada cawan petri yang sudah berisi pengenceran tadi dengan dicampurkan secara melingkar bentuk angka 8. dari pengenceran yang bercampur dengan media PCA tersebut, setelah selesai diberi plastik wrap, setelah dingin media yang ada di cawan dibalik dan diletakkan di LAF (*Laminar Air Flow*) selama 2 hari (Yunita *et al.*, 2015)

## b. Perhitungan TPC (*Total Plate Count*)

Dari perhitungan TPC (*Total Plate Count*) ini ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Koloni per ml atau per gram} = \frac{\text{jumlah koloni}}{\text{pada cawan} \times \text{faktor pengenceran}}$$

Dari rumus diatas bisa disimpulkan hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil perhitungan koloni *Azotobacter* sp.

Pengenceran	Jumlah
Pengenceran $10^5$	74
Pengenceran $10^7$	76
Pengenceran $10^9$	19

Menurut tabel diatas jumlah rata-rata dari pengenceran adalah:

$$= \frac{0,74 \times 10^7 + 76 \times 10^7}{2} = 38,37 \times 10^7$$

$$= 3,8 \times 10^8$$

Perhitungan koloni dilakukan menggunakan “*Standart Plate Count*” dengan cara menghitung dari cawan serta memilih jumlah koloni yang ada di sample yang layak untuk diaplikasikan (Soesetyowati & Azizah, 2020). Hasil tabel 1 diatas menunjukkan bahwa produksi agen hayati *Azotobacter* sp. layak untuk di aplikasikan di lapang sebab jumlah rata- rata  $3,8 \times 10^8$  sudah mencapai jumlah rata – rata efektifitas uji ke tanaman. Efektifitas yang digunakan para petani biasanya dengan jumlah rata – rata  $10^{10}/108$ . Hasil dari pengenceran di atas menunjukkan hasil yang berbeda dari pengenceran ke 5,7 dan pengenceran ke 9, dari perbedaan di atas bisa disimpulkan adanya faktor persiapan medium dan inkubasi yang tidak sama dapat menghasilkan jumlah mikroba yang berbeda.

Hasil pengenceran ke 9 tidak termasuk rata – rata dikarenakan perhitungan ke-9 menunjukkan hasil terendah sehingga ditulis kurang dari 30. Perhitungan ke-9 menunjukkan hasil negatif, sehingga tidak layak digunakan. Perhitungan bakteri yang berukuran  $0,5 - 5\mu\text{m}$  bisa menggunakan TPC (*Total Plate Count*) untuk mengetahui kualitas dan *hygiene* pada suatu produk yang akan dihasilkan (Sukmawati, 2018). Adapun keunggulan TPC (*Total Plate Count*) adalah untuk menghitung semua

jumlah sel yang ada pada cawan, sel yang hidup serta jenis mikroba lain yang ada didalamnya, karna koloni yang terbentuk berasal dari satu sel maka koloni tersebut juga dapat digunakan sebagai isolasi mikroba (Maiti & Bidinger, 1981). Sedangkan untuk ukuran jamur/cendawan yang terlalu kecil berukuran 3  $\mu\text{m}$ , cara perhitungannya menggunakan haemocytometer yang diamati melalui mikroskop untuk menghitung sel cendawan yang ada (Mahreni & Suhenri, 2011).

## SIMPULAN DAN SARAN

Perbanyakan *Azotobacter* sp. dapat dilakukan dengan tahapan pembuatan isolate bakteri pada agar miring (NA) dan pembuatan media cair dengan bahan dasar kedelai. Adapun cara perhitungan menggunakan metode TPC dilakukan dengan tahapan menghitung jumlah koloni bakteri yang tampak pada cawan petri. Dari hasil perhitungan TPC jumlah rata-rata  $3,8 \cdot 10^8$  sehingga layak untuk dijadikan pupuk pengatur tumbuh yang efektif.

Saran. Sebaiknya perlu dilakukan penelitian lanjut untuk pengaplikasian agen hayati yang berbahan dasar bakteri *Azotobacter* sp. Agar mahasiswa mampu mengetahui manfaat agen hayati tersebut untuk tanaman pangan dan hortikultura.

## DAFTAR RUJUKAN

- Estuningtyas, D. E., 2014. Pelaksanaan Sistem Pertanian Ramah Lingkungan : *Studi Kasus Pertanian Padi Organik*.
- Firdausi, N., dan Muslihatin, W. 2016. Pengaruh Kombinasi Media Pembawa Pupuk Hayati Bakteri Pelarut Fosfat Terhadap pH dan Unsur Hara Fosfor dalam Tanah. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2), 53–56.
- Harsono, Dwi. 2009. Pembangunan Pertanian Yang Berpihak Pada Petani 6393-16763-1-SM.
- Mahreni, dan Suhenri, S. 2011. Kinetika Pertumbuhan Sel *Sacharomyces Cerevisiae* Dalam Media Tepung Kulit Pisang. *Seminar Rekayasa Kimia Dan Proses*. 1–6.
- Maiti, dan Bidinger. 1981. Perhitungan TPC. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9): 1689–1699.
- Rahmi, SP, MP. 2014. Kajian Efektifitas Mikroba *Azotobacter* Sp. Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman Kakao (*Theobroma Cacao* L.). *Jurnal Galung Trop.ika*. 3(2): 44–53.
- Soesetyowati, E., dan Azizah. 2020. Akurasi Perhitungan Bakteri pada Daging Sapi

Menggunakan Metode Hitung Cawan. *Berkala Saintek*. VIII(3)75- 79. ISSN : 2339-0069.

Sukmawati, F. H. 2018. Analisis *Total Plate Count* ( TPC) Mikroba Pada. *Jurnal Biodjati*. 3(1): 72–78.

Yelianti Upik. 2011. NoRespon Tanaman Selada (*Lactuca sativa*) terhadap pemberian Pupuk Hayati dengan Berbagai Agen Hayati. 4(2): 0–4.

Yunita, M., Hendrawan, W., dan Rini, Y. 2015. Analisis Kuantitatif Mikrobiologi Pada Makanan Penerbangan (*Aerofood A C S*) Gaaruda Indonesia Berdasarkan TPC (*Total Plate Count*) dengan Metode *Pour Plate*. *Jurnal Keteknikaan Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3 (3) 3: -