

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PELARUT FOSFAT
DARI RIZOSFER TANAMAN PADI (*Oryza sativa*) PADA TANAH SAWAH
ORGANIK DAN NON ORGANIK DI KABUPATEN SUKOHARJO**

Skripsi

**Untuk memenuhi sebagian persyaratan
guna memperoleh gelar Sarjana Sains**



Oleh:

Dwi Purwanti

M0409014

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2015**

commit to user

HALAMAN PENGESAHAN

SKRIPSI

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PELARUT FOSFAT
DARI RIZOSFER TANAMAN PADI (*Oryza sativa*) PADA TANAH SAWAH
ORGANIK DAN NON ORGANIK DI KABUPATEN SUKOHARJO**

Oleh:

Dwi Purwanti
NIM. M0409014

Telah dipertahankan di depan Tim Penguji
Pada tanggal... 09... JAN... 2015
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat.

Surakarta, Januari 2015

Penguji I

Dra. Endang Anggarwulan, M.Si
NIP. 19500320 197803 2 001

Penguji II

Dr. Surtanto, M.S
NIP. 19540605 199103 1 002

Penguji III/ Pembimbing I

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si
NIP. 1966714 199903 2 001

Penguji IV/ Pembimbing II

Dr. Ari Susilowati, M.Si
NIP. 1969042 8199702 2 006



Dekan
FMIPA UNS

Prof. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc.(Hons).Ph.D
NIP. 19610223 198601 1 001

Mengesahkan



Ketua Jurusan Biologi
FMIPA UNS

Dr. Agung Budiharjo, M.Si
NIP. 19680823 200003 1 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil penelitian saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi serta tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari dapat ditemukan adanya unsur penjiplakan maka gelar kesarjanaan yang telah diperoleh dapat ditinjau kembali dan/atau dicabut.

Surakarta, 09 Januari 2015

Dwi Purwanti
NIM.M0409014

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI PELARUT FOSFAT
DARI RIZOSFER TANAMAN PADI (*Oryza sativa*) PADA TANAH
SAWAH ORGANIK DAN NON ORGANIK
DI KABUPATEN SUKOHARJO**

Dwi Purwanti

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Sebelas Maret, Surakarta

ABSTRAK

Salah satu unsur hara penting dalam tanah yaitu fosfat. Pemupukan fosfat sering tidak efisien karena fosfat terikat dan sukar diserap tanaman. Pemanfaatan bakteri pelarut fosfat (BPF) dapat dijadikan alternatif ketersediaan unsur P di dalam tanah. Tujuan penelitian ini untuk mendapatkan isolat-isolat BPF yang memiliki kemampuan tinggi melarutkan fosfat, dan mengidentifikasi isolat-isolat BPF tersebut secara molekuler.

Sampel tanah diambil dari sawah organik dan non organik di daerah Sukoharjo yaitu Desa Grogol, Kecamatan Weru, di Desa Menuran, Kecamatan Baki, dan di Desa Pondok, Kecamatan Nguter. Kegiatan penelitian dilakukan beberapa tahap, yaitu isolasi BPF pada medium Pikovskaya, karakterisasi dan pengujian BPF dalam melarutkan P, serta pewarnaan gram. Koloni BPF yang mempunyai indeks pelarutan fosfat dan menunjukkan warna koloni berbeda diambil kemudian dilakukan isolasi DNA. Isolasi DNA dilakukan dengan metode ekstraksi menggunakan *DNA ekstraksi kit*. Sampel DNA yang diperoleh diamplifikasi gen penyandi 16S rRNA. Sekuensing dilakukan menggunakan genetic analyzer. Analisis data dengan membandingkan data sekuen pada program BLASTN.

Berdasarkan hasil isolasi sampel rizosfer tanah sawah organik diperoleh 14 isolat BPF, sawah non organik 10 isolat BPF. Isolat P13, P1, Q7, dan Q8 memiliki kemampuan melarutkan P tertinggi dengan indeks pelarutan (IP), yaitu 3.35, 2.13, 1.82 and 1.47. Hasil analisis sekuen gen 16S rRNA menunjukkan bahwa isolat P1 dan P13 memiliki kemiripan sebesar 99% dengan *Acinetobacter sp.* galur ADP1. Isolat Q7 memiliki kemiripan sebesar 96% dengan genus *Clavibacter* strain NCPPB 382, sedangkan Q8 memiliki kemiripan sebesar 99% dengan *Pseudomonas aeruginosa* galur PAO1.

Kata kunci: Sawah organik dan non organik, fosfat, bakteri pelarut fosfat, gen penyandi 16S rRNA.

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF PHOSPHATE SOLUBILIZING BACTERIA FROM RHIZOSPHERE RICE (*Oryza sativa*) ON SOIL ORGANIC AND NON-ORGANIC RICE FIELD IN SUKOHARJO DISTRICT

Dwi Purwanti

Department of Biology, Faculty of Mathematics and Natural Sciences,
Sebelas Maret University, Surakarta

ABSTRACT

One of the important nutrients in the soil is phosphate. Phosphate fertilizer is often inefficient because of phosphate bound and difficult absorbed by plants. Phosphate solubilizing bacteria (PSB) can increase availability of P in the soil. The purpose of this study were to obtain PSB isolates had high ability to dissolve phosphate, and identify isolates by molecular analyzis.

Soil samples were taken from the organic and non-organic rice fields in the area of Sukoharjo were Grogol village, subdistrict Weru, Menuran village, subdistrict Baki, and Pondok village, subdistrict Nguter. The research activities were carried out in several steps, it were isolation of PSB on medium pikovskaya, characterization and testing of PSB in dissolving P, as well as Gram staining. PSB colonies which had wide solubilizing phosphate index and showed different colony colors were taken then DNA isolation was perfomed. Isolation of DNA was done by using DNA extraction kit method. DNA samples were used to amplified 16S rRNA genes. Sequencing was performed using genetic analyzer. The data were analyzed by comparing the data sequences using BlastN program.

Isolation of organic PSB from rhizosphere obtained 14 isolates, non-organic rice rhizosphere 10 isolates. Phosphate solubilizing bacteria isolates from organic rice field had highest IP 2 strains of *Acinetobacter* sp. Isolates bacteria solubilizing phosphate from non-organic rice field had highest IP *Pseudomonas aeruginosa* and one isolate had 96% similarity with *Clavibacter*.

Keywords: Organic and non-organic rice fields, phosphate, phosphate solubilizing bacteria, genes encoding 16S rRNA.

MOTTO

“Bismillahirrahmanirahim”

“Man Jadda Wa Jadda”

“Saya datang, saya bimbingan, saya ujian, saya revisi dan saya menang”

“Hari ini Anda adalah orang yang sama dengan Anda lima tahun yang akan datang, kecuali dua hal : orang-orang disekeliling Anda dan buku-buku yang Anda baca”

“Dan dari mana saja kamu keluar (datang), Maka palingkanlah wajahmu ke arah Masjid al-Haram, Sesungguhnya ketentuan itu benar-benar sesuatu yang hak dari Tuhanmu. dan Allah sekali-kali tidak lengah dari apa yang kamu kerjakan. (Q.S. al-Baqarah: 149)”

“You have brains in your head. You have feet in your shoes. You can steer yourself any direction you choose. You’re on your own. And you know what you know. And you are the one who’ll decide where to go.”

(Dr. Seuss)

commit to user

HALAMAN PERSEMBAHAN



Dengan penuh kasih karya sederhana ini kupersembahkan untuk:

Ayah, Ibu tercinta atas kasih sayang, ilmu

, kepercayaan, semangat, pengorbanan

dan doa yang tak terbatas

Kakak dan kedua adikku yang selalu memberikan do'a

serta semangat selama ini

Sahabat Bioromantika Biologi 2009, keluarga yang memberiku

manisnya kebersamaan

Seluruh pihak yang tidak dapat kusebutkan satu persatu, terima kasih

Almamater-ku tercinta, Universitas Sebelas Maret Surakarta

commit to user

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas rahmat, berkah dan karunia yang telah dilimpahkan kepada Penulis sehingga Penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat Dari Rizosfer Tanaman Padi (*Oryza sativa*) Pada Sawah Organik dan Non Organik di Kabupaten Sukoharjo. Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) di Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Dalam melakukan penelitian maupun penyusunan skripsi ini Penulis telah mendapatkan banyak masukan, bantuan, dan bimbingan dari berbagai pihak yang sangat berguna dan bermanfaat baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu pada kesempatan yang baik ini dengan berbesar hati Penulis ingin mengucapkan terima kasih yang setulusnya dan sebesarnya kepada:

1. Bapak, Ibu dan keluarga tercinta yang telah memberikan dukungan, semangat, kasing sayang, dan doanya untuk kelancaran studi penulis.
2. Ir. Ari Handono Ramelan, M.Sc.(Hons)., Ph.D selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, yang telah memberikan ijin penelitian untuk keperluan skripsi.
3. Dr. Agung Budiharjo, M.Si selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, terima kasih atas kelonggaran waktunya dalam memberikan arahan, motivasi, dan bimbingan kepada mahasiswa Jurusan Biologi.
4. Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si selaku dosen pembimbing pertama, terima kasih atas arahan, bimbingan dan waktu diskusi yang telah diberikan mulai dari awal hingga akhir penulisan skripsi ini.
5. Dr. Ari Susilowati, M.Si selaku dosen pembimbing kedua, terima kasih atas koreksi dan bimbingan yang telah diberikan mulai dari awal hingga akhir penulisan skripsi ini.
6. Dra. Endang Anggarwulan, M.Si selaku dosen penguji pertama, terima kasih atas masukan yang telah diberikan untuk perbaikan.

7. Dr. Sunarto, M.S selaku dosen penguji kedua, terima kasih atas masukan yang telah diberikan untuk perbaikan.
8. Dosen-dosen di Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sebelas Maret Surakarta, atas ilmu, nasihat, dan motivasi yang telah diberikan selama perkuliahan.
9. Staf administrasi Jurusan Biologi serta Laboran Nina Astreani, M.Si., Atik Dwiningsih, A.Md., dan Adenan Suryani yang telah membantu kelancaran penelitian ini.
10. Thiara Mardi saudara seperjuangan dalam proyek ini yang telah membantu dan selalu memberikan semangat kepada penulis.
11. Hanni, Bening, Ai, Nunung, Nisa, Maje dan Thiara, seluruh keluarga besar Biologi 2009, serta semua yang tidak bisa saya sebutkan satu-persatu terima kasih atas pesahabatan dan motivasi yang telah diberikan kepada saya.

Dengan kerendahan hati penulis menyadari bahwa melakukan penelitian dan penyusunan skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu masukan yang berupa saran dan kritik yang membangun dari para pembaca akan sangat membantu. Semoga skripsi ini bisa bermanfaat bagi kita semua dan pihak-pihak yang terkait.

Surakarta, 09 Januari 2015

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
HALAMAN MOTTO	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN	vii
KATA PENGANTAR	viii
DAFTAR ISI	x
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II LANDASAN TEORI	7
A. Tinjauan Pustaka	7
1. Tanah Pertanian	7
2. Pertanian Organik dan Pertanian Non Organik	8

commit to user

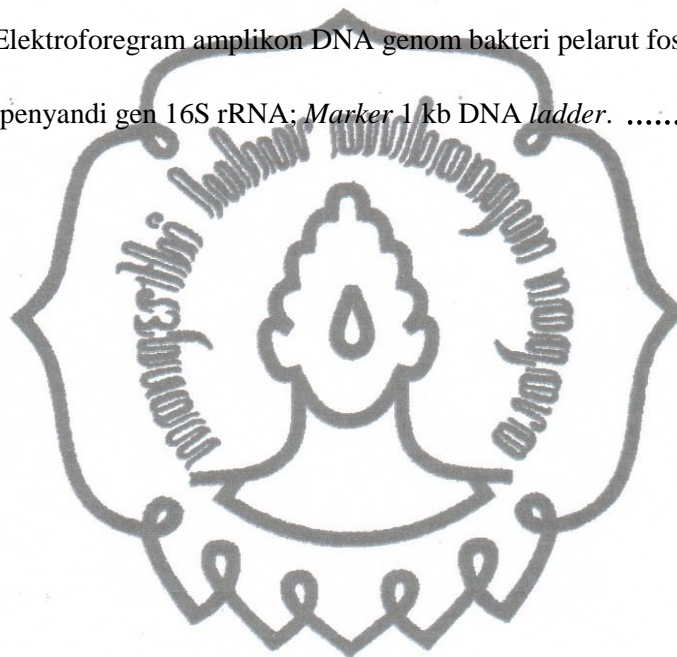
a. Pertanian Organik	8
b. Pertanian Non Organik	10
3. Hara Fosfat	11
a. Mekanisme Penyerapan Fosfor Pada Tanaman	12
b. Manfaat Fosfat Bagi Tanaman.....	13
4. Bakteri Pelarut Fosfat	15
5. Mekanisme Pelarutan Fosfat oleh Bakteri	17
6. Identifikasi Bakteri	19
B. Kerangka Pemikiran	21
C. Hipotesis	23
BAB III METODE PENELITIAN	24
A. Waktu dan Tempat Penelitian.....	24
B. Alat dan Bahan	24
1. Alat	24
2. Bahan	25
C. Cara Kerja	26
1. Pengambilan Sampel	26
2. Pembuatan Medium Psikovkaya	26
3. Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat	26
4. Pengukuran Zona bening	27
5. Karakterisasi Morfologi Koloni dan Sel Bakteri	27
6. Ekstraksi DNA	28
7. Amplifikasi Gen 16S rRNA	30

commit to user

8. Sekuensing Gen Penyandi 16S rRNA	30
D. Analisis Data	31
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	32
A. Sampel Tanah dari Rhizosfer Tanaman	
Padi (<i>Oryza sativa</i>)	32
B. Bakteri Pelarut Fosfat	35
C. Karakteristik Isolat Bakteri Pelarut Fosfat	39
D. Gen Penyandi 16S rRNA	41
E. Identitas Bakteri Pelarut Fosfat	42
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	47
A. Kesimpulan	47
B. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	54
RIWAYAT HIDUP PENULIS	59

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Alur Kerangka Pemikiran	21
Gambar 2. Hasil uji padat BPF pada media pikovskaya	36
Gambar 3. Hasil pewarnaan gram keempat isolat BPF	38
Gambar 4. Elektroforegram amplikon DNA genom bakteri pelarut fosfat penyandi gen 16S rRNA; <i>Marker 1 kb DNA ladder</i>	40



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Karakteristik Morfologi Koloni dan Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat dalam Melarutkan P pada Medium Pikovskaya Padat	34
Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona bening dan perhitungan indeks pelarutan fosfat (IP) oleh isolat BPF di sawah organik dan non organik	36
Tabel 3. Hasil pewarnaan gram isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer tanaman padi (<i>Oryza sativa</i>) pada sawah organik dan non organik di Sukoharjo.....	38
Tabel 4. Persentase kesamaan DNA bakteri pelarut fosfat dari rizosfer tanaman padi pada sawah organik dan non organik dengan sekuens <i>GeneBank</i>	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Sertifikat padi organik (KAN).....	32
Lampiran 2. Urutan basa isolat P1, P13 dan Q7, Q8	54



commit to user