



**SKRINING *Azotobacter* ADAPTIF VINASSE DARI LAHAN TEBU
PG JATIROTO KABUPATEN LUMAJANG**

SKRIPSI

Oleh

**Lia Puspitasari
NIM 061810401019**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2012**



**SKRINING *Azotobacter* ADAPTIF VINASSE DARI LAHAN TEBU
PG JATIROTO KABUPATEN LUMAJANG**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Biologi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Sains

Oleh

Lia Puspitasari
NIM 061810401019

JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER
2012

PERSEMBAHAN

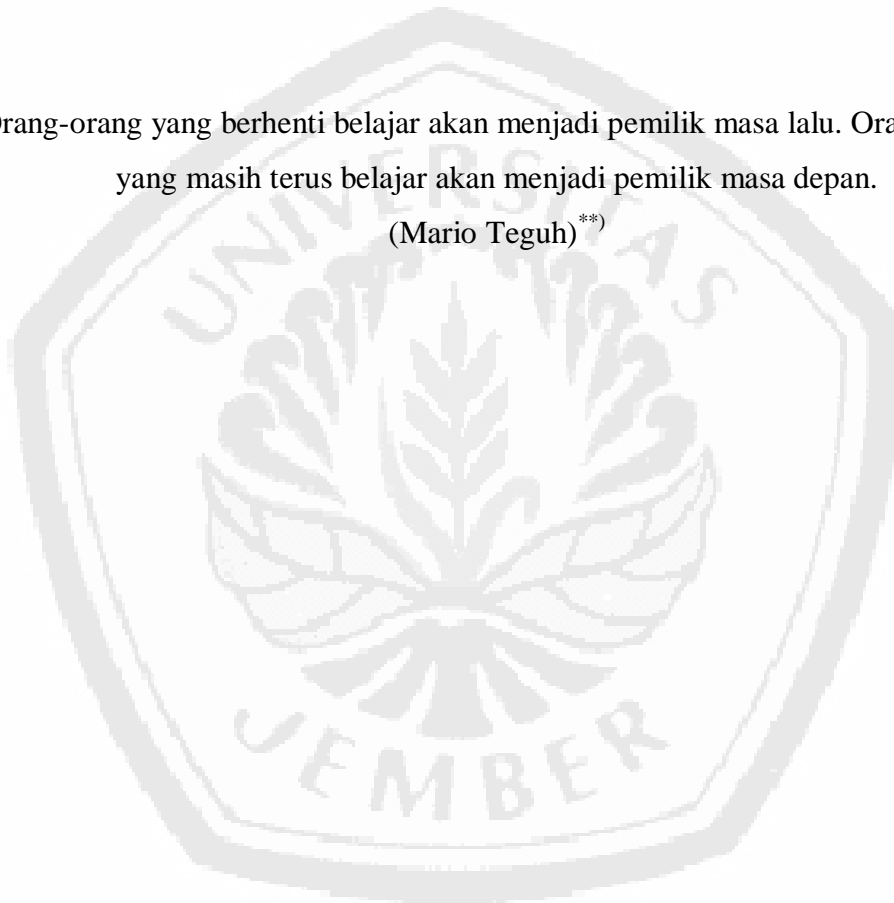
Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. kedua orangtua tercinta, Bapak Gatot Prasetyo Adi dan Ibunda Rupiah terima kasih atas untaian do'a yang tak pernah putus, kasih sayang, nasehat, dan kesabarannya dalam mendidik, mengarahkan, dan mendoakanku agar menjadi anak yang baik dan berbakti;
2. kakak dan kakak ipar tersayang yang senantiasa memberi dukungan dan motivasi;
3. semua guru dan dosen yang telah membimbing dan memberikan ilmu hingga kini;
4. Almamater Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

MOTO

Semua masalah niscaya pasti ada jalan keluarnya. Allah tidak membebani seseorang melainkan sesuai dengan kemampuannya.
(Terjemahan Surat Al-Baqarah: 284-28)^{*)}

Orang-orang yang berhenti belajar akan menjadi pemilik masa lalu. Orang-orang yang masih terus belajar akan menjadi pemilik masa depan.
(Mario Teguh)^{**)}



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 1992. *Al-Qur'an dan terjemahannya*. Semarang: TB. Nurcahaya.

***) Pantjawidaya, E. 2009. *Kutipan Motivasi Dosis Tinggi*. Bandung: Octopus

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Lia Puspitasari

NIM : 061810401019

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul ” *Skrining Azotobacter Adaptif Vinasse dari Lahan PG Jatiroto Kabupaten Lumajang*” adalah benar-benar hasil karya ilmiah sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya dan belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta bukan karya jiplakan. Penelitian ini dibiayai proyek Dr. Kahar Muzakhar, S.Si. dan karya ilmiah ini tidak dapat dipublikasikan atas seijin dosen bersangkutan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 25 Oktober 2012

Yang Menyatakan,

Lia Puspitasari
NIM 061810401019

SKRIPSI

SKRINING *Azotobacter* ADAPTIF VINASSE DARI LAHAN TEBU PG JATIROTO KABUPATEN LUMAJANG

Oleh

Lia Puspitasari
NIM 061810401019

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.

Dosen Pembimbing Anggota : Drs. Sutoyo, M.Si.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul ” Skringing *Azotobacter* Adaptif Vinasse dari Lahan Tebu PG Jatiroto Kabupaten Lumajang” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal :

tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Tim Penguji

Ketua,

Dr. Kahar Muzakhar, S.Si.
NIP 196805031994011001

Anggota I,

Sattya Arimurti, S.P, M.Si.
NIP 19740331999032001

Sekretaris,

Drs. Sutoyo, M.Si.
NIP 196610141992031002

Anggota II,

Drs.Rudju Winarsa, M.Kes.
NIP 196008161989021001

Mengesahkan
Dekan,

Prof. Drs. Kusno, DEA, Ph.D.
NIP 196101081986021001

RINGKASAN

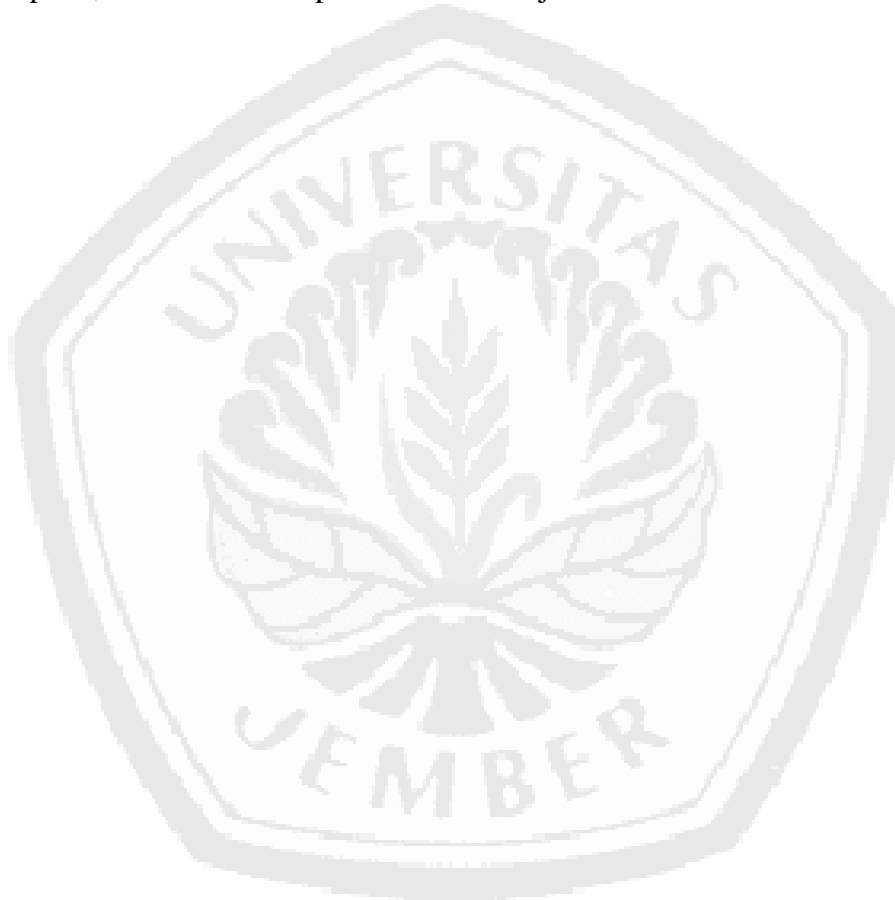
Skrining *Azotobacter* Adaptif Vinasse dari Lahan Tebu PG Jatiroto Kabupaten Lumajang; Lia Puspitasari; 061810401019; 2012: 25 halaman; Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Salah satu mikroba penambat N nonsimbiotik yang berperan sebagai pupuk hayati adalah *Azotobacter*. Penggunaan *Azotobacter* sebagai pupuk membutuhkan media pembawa yang sesuai. Vinasse mengandung materi organik, potasium, kalsium yang tinggi dan sejumlah nitrogen dan fosfor yang tinggi pula yang berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai media pembawa *Azotobacter*. Dengan demikian pada penelitian ini masalah yang akan diteliti yaitu adalah bahwa apakah dari hasil skrining dapat diperoleh isolat-isolat *Azotobacter* yang dapat beradaptasi terhadap vinasse. Tujuan penelitian ini adalah mendapatkan isolat *Azotobacter* dari lahan Perkebunan PG Jatiroto yang adaptif vinasse. Hasil penelitian ini diharapkan bermanfaat bagi pengembangan mikrobiologi tentang pengetahuan daya adaptasi berbagai isolat *Azotobacter* pada media vinasse. Selain itu dari penelitian ini *Azotobacter* terpilih dapat dikembangkan lebih lanjut sebagai agen hayati penyedia nitrogen pada tanaman yang berbasis vinasse untuk pengembangan produksi pertanian.

Penelitian ini menggunakan rancangan dasar penelitian deskriptif. Penelitian dilaksanakan sesuai dengan tahapan yaitu (i) skrining isolat *Azotobacter* yang terdiri dari isolasi *Azotobacter* dan identifikasi *Azotobacter*, dan (ii) pengamatan adaptasi isolat *Azotobacter* yang diawali dari pembiakan isolat *Azotobacter* pada vinasse murni, vinasse yang diencerkan dengan akuades dengan rasio 1:1 dan 1:2, dan dilanjutkan dengan pembuatan kurva pertumbuhan isolat *Azotobacter* pada media MA cair dan vinasse dengan pengenceran yang memungkinkan isolat dapat tumbuh.

Dalam penelitian ini, diperoleh 7 isolat bakteri *Azotobacter* yang berasal dari lahan Perkebunan Tebu PG Jatiroto. Semua isolat tersebut memiliki karakteristik

yang berbeda. Dari 7 isolat tersebut, satu isolat bakteri terbukti adaptif terhadap vinasse yaitu isolat 1. Periode waktu pertumbuhan isolat 1 hingga mencapai fase kematian pada media vinasse lebih lama dibandingkan pada media AMA. Jumlah sel tertinggi isolat 1 pada media vinasse mencapai $4,2 \times 10^{13}$ CFU/ml pada inkubasi 72 jam sedangkan jumlah sel tertinggi isolat 1 pada media AMA jumlah sel tertinggi mencapai $9,0 \times 10^{10}$ CFU/ml pada inkubasi 20 jam.



PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “Skrining *Azotobacter* Adaptif Vinasse dari Lahan Tebu PG Jatiroto Kabupaten Lumajang”. Skripsi ini disusun guna memenuhi salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Sains Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Jember.

Penulisan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. Dr. Kahar Muzakhar, S.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama dan Drs. Sutoyo, M.Si., selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak meluangkan waktu, membimbing dan mengarahkan hingga penulis mampu menyelesaikan skripsi ini;
2. Sattya Arimurti, S.P., M.Si., dan Drs. Rudju Winarsa, M.Kes., selaku Dosen Penguji, yang telah memberikan saran bagi penulis sampai terselesainya skripsi ini;
3. Ir. Endang Susetyaningsih selaku teknisi Laboratorium Mikrobiologi terima kasih telah membantu dan membimbing selama penelitian;
4. Friska, Ika, Umi, Anja, Ajeng, Anton, Audi, dan Bukhari serta seluruh rekan angkatan 2006 Jurusan Biologi atas segala kebersamaan dan dukungannya selama ini;
5. semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, 25 Oktober 2012

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	ix
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	2
1.2 Perumusan Masalah	2
1.3 Tujuan dan Manfaat	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1 Azotobacter	3
2.2 Vinasse	5
BAB 3. METODE PENELITIAN	7
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	7
3.2 Rancangan Penelitian	7
3.3 Alat dan Bahan	9

3.3.1 Alat	9
3.3.2 Bahan	9
3.4 Prosedur Penelitian	9
3.4.1 Pengambilan Sampel Tanah	9
3.4.2 Isolasi <i>Azotobacter</i>	10
3.4.3 Identifikasi Morfologi Makroskopis dan Mikroskopis <i>Azotobacter</i>	11
3.4.4 Uji Katalase.....	12
3.4.5 Uji Adaptasi <i>Azotobacter</i> pada Vinasse	12
3.4.6 Pembuatan Kurva Pertumbuhan Isolat Terpilih pada Media AMA dan Vinasse.....	12
3.5 Analisis Data	13
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	14
4.1 Isolasi dan Identifikasi <i>Azotobacter</i>	14
4.2 Pengamatan Adaptasi <i>Azotobacter</i> pada Media Vinasse.....	15
4.3 Kurva Pertumbuhan Isolat 1 pada Media AMA dan Media Vinasse	18
BAB 5. PENUTUP	20
5.1 Kesimpulan	20
5.2 Saran	20
DAFTAR BACAAN	21
LAMPIRAN	23

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Perbedaan karakteristik morfologi spesies <i>Azotobacter</i>	4
4.1 Hasil identifikasi morfologi makroskopis, mikroskopis isolat <i>Azotobacter</i> , dan biokimia.....	16



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Mekanisme penambatan nitrogen oleh enzim nitrogenase	5
3.1 Diagram skrining <i>Azotobacter</i> sampai dengan uji adaptif vinasse	8
4.1 Pertumbuhan isolat 1, 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 pada media AMA umur 48 jam	14
4.2 Hasil uji adaptasi pertumbuhan <i>Azotobacter</i> isolat 1(1, B) pada media AMA setelah diuji adaptasinya pada media vinasse	17
4.3 Kurva pertumbuhan isolat 1 pada media AMA dan vinasse dengan pengenceran menggunakan akuades 1:2	18

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. KARAKTERISTIK VINASSE	22
B. ASAM AMINO PADA VINASSE	22
C. KOMPOSISI MEDIA AGAR MANITOL ASBHY (AMA)	23
D. SKEMA PENGAMBILAN SAMPEL TANAH	24
E. FLUORESENS PADA ISOLAT 4	24
F. MORFOLOGI MIKROSKOPIS ISOLAT 1 YANG MENUNJUKKAN SIFAT GRAM NEGATIF DAN BERBENTUK KOKOBASIL (PERBESARAN 1000 ×)	25
G. JUMLAH SEL ISOLAT 1 SELAMA INKUBASI PADA MEDIA AMA CAIR DAN VINASSE CAIR.....	25
G1. Log Jumlah Sel Isolat 1 pada Media AMA yang Diinkubasi Selama 32 Jam dan Diamati Setiap 4 Jam Sekali	26
G2. Log Jumlah Sel Isolat 1 pada Media Vinasse cair yang Diinkubasi Selama 132 Jam dan Diamati Setiap 12 Jam Sekali	26

..

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Salah satu alternatif pemupukan yang diharapkan lebih efisien dan ramah lingkungan adalah pemupukan menggunakan bahan organik atau mikroba yang dapat berperan sebagai pupuk hayati. Salah satu mikroba yang berperan dalam penyediaan N bagi tanaman yaitu *Azotobacter*. *Azotobacter* adalah spesies rizobakteri yang telah dikenal sebagai agen biologis pemfiksasi dinitrogen, bersifat diazotrof, dan mampu mengubah dinitrogen menjadi amonium melalui reduksi elektron dan protonasi gas dinitrogen (Hindersah dan Simarmata, 2004). Kisaran pH untuk pertumbuhan dengan adanya nitrogen tambahan adalah 4,5 - 8,5 sedangkan pH optimal untuk pertumbuhan dan pengikatan nitrogen adalah 7 - 7,5. (Holt *et al.*, 1994). Penggunaan *Azotobacter* sebagai pupuk membutuhkan media pembawa yang sesuai.

Menurut Saraswati (1999) bahan pembawa mikroba harus mampu berfungsi sebagai sumber energi dan tempat tinggal mikroba dalam suatu jangka waktu tertentu. Selain itu bahan pembawa yang baik antara lain bersifat tidak toksik bagi mikroba, mudah disterilkan, dan tersedia secara melimpah (Burton, 1979 dalam Tyas, 2008). Hasil penelitian Garzon *et al.* (2006) menyebutkan bahwa vinasse tidak menimbulkan toksisitas bagi mikroba.

Pemilihan media pembawa harus didasarkan pada kemampuan mikroba beradaptasi dengan baik. Menurut Rodriguez (2000) vinasse merupakan limbah cair yang dihasilkan selama proses produksi alkohol dengan kandungan materi organik, potassium, kalsium yang tinggi dan sejumlah nitrogen dan fosfor yang cukup tinggi juga. Ketersediannya sebagai limbah dari produksi alkohol cukup melimpah namun demikian telah dimanfaatkan sebagai pupuk organik yang terbukti dapat meningkatkan produktivitas tanaman. Dengan karakteristik dan pemanfaatannya