

Potensi Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) dalam Penambatan Nitrogen

*Potential of Endophytic Bacteria Isolates of Sweet Potato (*Ipomoea batatas*) Roots in Nitrogen Fixation*

Yayang Vionita*, Yuni Sri Rahayu, Lisa Lisdiana

Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Surabaya

*e-mail: viovioyayang@yahoo.com

ABSTRAK

Bakteri endofit diazotrof merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan membantu proses fiksasi nitrogen secara biologi sehingga diperoleh akumulasi amonium yang akan dimanfaatkan oleh tanaman inang. Empat isolat bakteri endofit telah diisolasi dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi, yaitu isolat A1, B1, B2, dan B3. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendeskripsikan potensi isolat bakteri tersebut dalam penambatan nitrogen dan untuk mendeskripsikan isolat yang paling potensial dalam penambatan nitrogen. Isolat bakteri diremajakan dalam media *Nitrat Mineral Salts* (NMS) agar, kemudian diinokulasikan ke dalam media NMS cair dan diinkubasi pada suhu ruang (25-30°C) selama enam hari. Setiap hari dilakukan penghitungan jumlah sel bakteri endofit menggunakan haemositometer dan penghitungan akumulasi amonium menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Data akumulasi amonium dan jumlah sel bakteri endofit dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa isolat bakteri endofit A1, B1, B2, dan B3 memiliki kemampuan dalam akumulasi amonium yang ditunjukkan dengan peningkatan nilai akumulasi amonium. Isolat B3 merupakan isolat yang paling potensial dalam penambatan nitrogen, karena memiliki nilai akumulasi yang stabil selama 6 hari masa inkubasi.

Kata kunci: bakteri endofit; akar ubi jalar; penambatan nitrogen; akumulasi amonium

ABSTRACT

Diazotroph endophytic bacteria are microorganisms that live in the tissues of plants and involved in the process of biological nitrogen fixation, in order to accumulate the ammonium which will be utilized by the host plant. Four isolates of endophytic bacteria isolated from sweet potato's root, named isolates A1, B1, B2, and B3. The purpose of this research was to describe the potential of the endophytic bacteria isolates in nitrogen fixation and to describe the most potential isolates in nitrogen fixation. The isolates were recultured in the media Nitrate Mineral Salts (NMS) agar, and then inoculated into NMS broth medium and incubated at room temperature (25-30 ° C) for six days. The cultures were daily observed for the bacterial number and the accumulation of ammonium. The bacterial number were counted by using direct count method, meanwhile the accumulation of ammonium were measured by using spectrophotometer at 410 nm. The results revealed that the endophytic bacterial isolates A1, B1, B2, and B3 capable to accumulate the ammonium which is indicated by the increase of ammonium value. Isolates B3 was the most potential isolates, with the stabil value of accumulation of ammonium during six days incubation.

Key words: endophytic bacteria, sweet potato's root, nitrogen fixation, ammonium accumulation

PENDAHULUAN

Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman yang sehat tanpa menunjukkan gejala dari keberadaan bakteri tersebut. Bakteri endofit dapat hidup di dalam jaringan tanaman selama siklus hidup atau pada fase tertentu dari siklus hidupnya (Bandara *et al.*, 2006). Bakteri endofit yang memiliki kemampuan dalam penambatan nitrogen secara biologi akan sangat membantu tanaman dalam memperoleh unsur hara N. Bakteri tersebut

umumnya disebut sebagai bakteri endofit diazotrof (Van Elsas *et al.*, 2007).

Bakteri endofit diazotrof merupakan mikroorganisme yang hidup di dalam jaringan tanaman dan membantu proses fiksasi nitrogen secara biologi pada tanaman inangnya (Koomnok *et al.*, 2007). Asosiasi antara bakteri endofit diazotrof dengan tanaman akan menyebabkan akumulasi nitrogen pada tanaman (Jha *et al.*, 2013), sehingga kemampuan penyerapan unsur hara N meningkat. Khan dan Doty (2009)

menjelaskan bahwa bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) mampu melakukan fiksasi nitrogen, mensekresi hormon IAA dan meningkatkan ketahanan tanaman ketika kondisi lingkungan kurang menguntungkan.

Sejumlah penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit diazotrof juga ditemukan pada akar, umbi, dan batang tanaman ubi jalar (Youssef *et al.*, 2004). Penelitian yang dilakukan oleh Anggara dkk. (2014) memperoleh 4 isolat bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi, yaitu isolat A1, B1, B2 dan B3 yang memiliki kemampuan untuk menghasilkan hormon IAA relatif tinggi.

Karakterisasi fisiologi keempat isolat tersebut menunjukkan hasil positif pada uji reduksi nitrat. Proses reduksi nitrat oleh bakteri akan menghasilkan amonium (NH_4^+) sebagai salah satu unsur penyusun hormon IAA (Salisbury dan Ross, 1995). Kemampuan mereduksi nitrat didukung dengan kemampuan bakteri dalam melakukan penambatan nitrogen, karena hasil dari penambatan nitrogen salah satunya adalah nitrat yang akan direduksi menjadi bentuk amonium (NH_4^+) yang tersedia untuk tanaman.

Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA didukung oleh unsur nitrogen sebagai salah satu penyusun triptofan atau prekursor dari hormon IAA (Lakitan, 2008). Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA didukung potensi bakteri endofit dalam penambatan nitrogen, karena amonium yang dihasilkan akan digunakan untuk menyusun hormon IAA (Anggara dkk., 2014).

Penelitian mengenai potensi penambatan nitrogen oleh isolat bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi perlu dilakukan, mengingat besarnya peran bakteri endofit dalam membantu proses penyerapan unsur hara N, selain itu belum dilakukan uji yang bertujuan untuk mendeskripsikan potensi isolat bakteri tersebut dan untuk mendeskripsikan isolat yang paling berpotensi dalam penambatan nitrogen.

BAHAN DAN METODE

Penelitian observasional ini dilakukan pada bulan Februari sampai dengan Maret 2015. Uji potensi penambatan nitrogen oleh isolat bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi dilakukan di UPT Proteksi Tanaman Pangan dan Hortikultura Jawa Timur, uji spektrofotometri dilakukan di

Laboratorium Teknik Lingkungan Institut Teknologi Sepuluh November Surabaya (ITS), dan analisis data dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi C9 FMIPA Universitas Negeri Surabaya.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *laminar air flow*, autoklaf, jarum ose, bunsen, inkubator, *aluminium foil*, gelas ukur, tabung reaksi, erlenmeyer, botol vial, *shaker*, *sentrifuge*, timbangan analitik, mikropipet, spektrofotometer *Genesys 20* untuk mengukur akumulasi amonium (NH_4^+), dan alat tulis. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah media selektif *Nitrate Mineral Salts* (NMS) yang mengacu pada penelitian Sagala (2009), isolat bakteri endofit (A1, B1, B2 dan B3) dari penelitian Anggara dkk. (2014), larutan NH_4Cl , NaCl 0,9%, akuades, alkohol 70%, *Methylene Blue* 0,01% untuk mewarnai sel bakteri, dan reagen *Nessler* untuk uji akumulasi amonium.

Langkah pertama pada penelitian ini adalah pembuatan kurva standar NH_4Cl yang dilakukan dengan membuat larutan NH_4Cl yang memiliki konsentrasi berbeda, yaitu 0 ppm; 0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; 0,75 ppm; 1 ppm; dan 1,5 ppm dan diukur nilai absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm. Data nilai absorbansi yang diperoleh selanjutnya akan digunakan untuk menentukan persamaan linier kurva standar NH_4Cl (Sagala, 2009).

Metode yang digunakan untuk uji fiksasi N bebas (N_2) berdasarkan metode Sagala (2009). Setiap isolat bakteri uji terlebih dahulu diremajakan dengan menumbuhkan bakteri endofit pada media NMS agar, kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang (25-30°C). Setiap kultur bakteri pada media NMS agar yang berusia 24 jam selanjutnya diambil sebanyak 1-2 ose dan masing-masing dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% secara terpisah, kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Setiap suspensi bakteri tersebut diambil sebanyak 500 μl dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 50 ml media NMS cair steril, kemudian diinkubasi di atas mesin *shaker* dengan kecepatan 160 rpm pada suhu ruang (25-30°C) selama enam hari.

Penghitungan jumlah sel bakteri dilakukan setiap hari selama masa inkubasi dengan metode penghitungan langsung (*direct count*) menggunakan haemositometer (Hadjoetomo, 1993). Sel yang dihitung adalah sel yang tidak terwarnai oleh *Methylene Blue*.

Setiap kultur bakteri tersebut sebelum diinkubasi terlebih dahulu diukur kemampuan akumulasi amonium (NH_4^+) dengan

spektrofotometer pada panjang gelombang 410 nm untuk data awal. Akumulasi amonium dalam masing-masing kultur bakteri endofit selanjutnya diukur setiap hari dengan mengambil 5 ml kultur bakteri endofit, kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 10.000xg. Supernatan diambil dan ditambahkan reagen *Nessler* untuk selanjutnya diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30°C). Supernatan dari masing-masing isolat bakteri endofit tersebut kemudian diukur akumulasi amoniumnya. Pengukuran tersebut dilakukan selama enam hari. Akumulasi jumlah amonium selanjutnya dihitung dengan persamaan berikut (Sagala, 2009):

$$[\text{amonium}] = \left[\frac{y - b - \text{OD amonium awal}}{a} \right] \times \text{F.P} / \text{Mr NH}_4\text{Cl}$$

Keterangan:

a & b = konstanta pada persamaan linier kurva standar NH_4Cl

y = OD amonium sampel

F.P = faktor pengenceran (11)

Mr = masa atom relatif

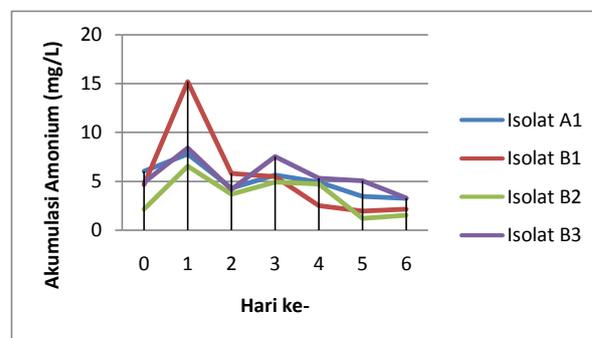
Data akumulasi amonium (NH_4^+) dan jumlah sel bakteri endofit selama enam hari masa inkubasi dianalisis secara deskriptif kuantitatif. Data akumulasi amonium (NH_4^+) setiap harinya dibandingkan antar isolat bakteri endofit untuk

mengetahui kemampuan masing-masing isolat bakteri endofit dalam penambatan nitrogen.

HASIL

Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa isolat bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar varietas Papua Patippi, yaitu isolat A1, B1, B2, dan B3 memiliki kemampuan dalam penambatan nitrogen. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa masing-masing isolat bakteri endofit memiliki nilai akumulasi amonium dan jumlah sel berbeda.

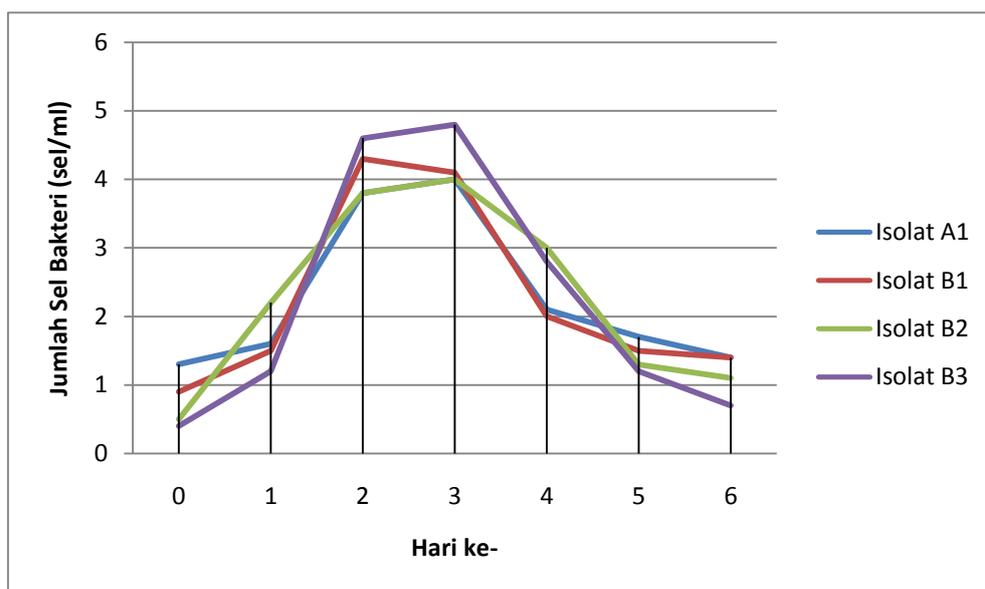
Hasil pengamatan pada grafik akumulasi amonium isolat bakteri endofit menunjukkan bahwa nilai akumulasi amonium masing-masing isolat bakteri endofit mengalami fluktuasi setiap harinya. Nilai tertinggi akumulasi amonium tertinggi diperoleh pada pengamatan hari ke-1 yang kemudian menurun secara drastis pada hari ke-2. Nilai akumulasi amonium kembali naik pada hari ke-3 dan kembali turun pada hari ke-4. Nilai akumulasi amonium tertinggi diperoleh pada isolat B1 sebesar 15,18 mg/L, sedangkan nilai akumulasi amonium terendah diperoleh isolat B2 dengan nilai sebesar 6,55 mg/L. Fluktuasi nilai akumulasi amonium masing-masing isolat bakteri endofit dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Grafik akumulasi amonium isolat bakteri endofit

Jumlah sel masing-masing isolat bakteri endofit menunjukkan adanya fluktuasi, diawali dengan fase adaptasi (*lag phase*) terjadi pada hari ke-1. Peningkatan jumlah sel bakteri yang berlipat ganda pada hari ke-2 menunjukkan bahwa bakteri berada pada fase perbanyakan (*log phase*), kecuali isolat bakteri endofit B2 yang langsung berada pada fase perbanyakan (*log phase*) sejak hari ke-0 tanpa melalui fase adaptasi (*lag phase*). Fase statis terjadi pada hari ke-2 sampai hari ke-3. Pada fase

ini jumlah sel bakteri endofit tidak mengalami peningkatan atau penurunan dalam jumlah yang besar. Hari ke-3 sampai dengan hari ke-6 menunjukkan adanya penurunan secara terus menerus dari jumlah sel bakteri endofit, sehingga dapat dikatakan bahwa isolat bakteri endofit berada pada fase kematian (*death phase*). Fluktuasi jumlah sel bakteri membentuk kurva yang serupa dengan kurva pertumbuhan bakteri pada umumnya seperti yang terlihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Grafik jumlah sel bakteri endofit

PEMBAHASAN

Nilai akumulasi amonium pada pengamatan hari ke-2 mengalami penurunan secara drastis, namun jumlah sel bakteri endofit justru mengalami peningkatan jumlah secara drastis. Hal tersebut disebabkan oleh kondisi kultur bakteri yang tidak sesuai dengan lingkungan alami bakteri endofit.

Hasil pengamatan akumulasi amonium oleh isolat bakteri endofit A1, B1, B2, dan B3 menunjukkan bahwa isolat bakteri endofit tersebut tidak dapat mengakumulasi amonium dengan baik pada pengamatan hari ke-2 ditandai dengan nilai akumulasi amonium yang menurun secara drastis (Gambar 1). Kondisi tersebut dapat disebabkan karena terhambatnya proses penambatan nitrogen pada kondisi kultur tertutup. Proses tersebut dapat terhambat jika terjadi kekurangan sumber N_2 bebas pada media pertumbuhan yang akan digunakan sebagai sumber nitrogen oleh bakteri endofit. Bakteri endofit pada habitat alaminya, yaitu di dalam jaringan tanaman mendapatkan sumber N_2 bebas dari udara dan sumber nutrisi dari tanaman inang secara terus-menerus, sehingga kondisi yang ada bersifat optimal untuk proses pertumbuhan dan penambatan nitrogen (Nair, 2008).

Sejumlah besar amonium yang diakumulasi selama pengamatan hari ke-1 menyebabkan bakteri endofit tidak lagi menghasilkan enzim *nitrogenase* untuk proses fiksasi nitrogen. Fay (1992) menjelaskan bahwa bakteri endofit akan melakukan sintesis enzim *nitrogenase* sebagai enzim kunci dalam proses fiksasi nitrogen hanya

ketika sumber nitrogen pada media tidak tersedia dalam jumlah besar.

Kadar oksigen juga merupakan faktor yang memengaruhi proses penambatan nitrogen oleh bakteri endofit. Adanya kontak antara isolat bakteri endofit dengan oksigen bebas yang dihasilkan dari proses aerasi menggunakan *shaker* memungkinkan terjadinya kerusakan kompleks enzim *nitrogenase* yang akan menghambat proses penambatan nitrogen oleh bakteri endofit (Dixon and Khan, 2004). Enzim *nitrogenase* akan menjadi tidak aktif dan mengalami reaksi yang *irreversible* ketika terjadi kontak dengan oksigen bebas, karena oksigen bebas akan bereaksi dengan gugus metal pada enzim *nitrogenase* (Ludden, 2001).

Penurunan nilai akumulasi amonium terjadi pada pengamatan hari ke-2 seperti yang digambarkan pada grafik akumulasi amonium (Gambar 1) dipengaruhi oleh mekanisme proteksi bakteri endofit terhadap oksigen bebas. Mekanisme proteksi bakteri endofit diazotrof untuk melindungi enzim *nitrogenase* dari kerusakan akibat adanya kontak dengan oksigen dilakukan dengan mempercepat proses respirasi secara aerob, sehingga kadar oksigen yang masuk ke sitoplasma dapat dibatasi jumlahnya. Mekanisme proteksi lainnya adalah dengan melakukan sintesis protein pelindung enzim *nitrogenase* yang disebut *Shethna* atau FeS-II (Purwoko, 2007).

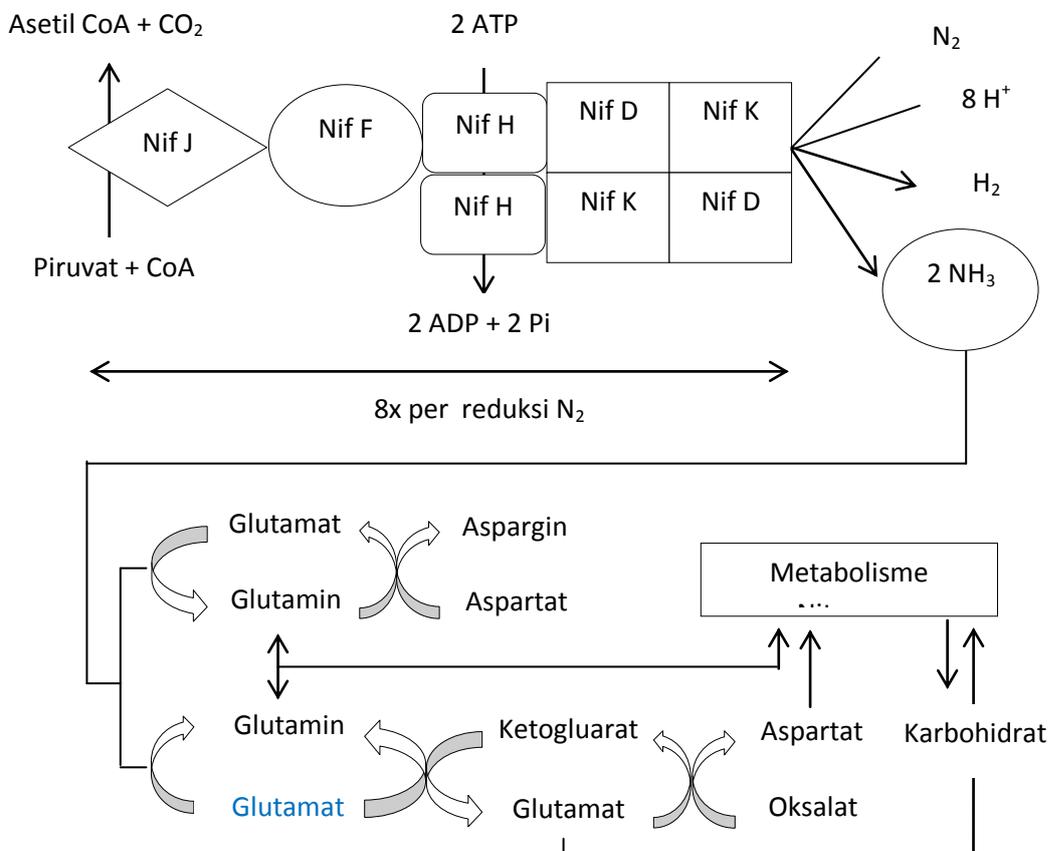
Mekanisme proteksi tersebut dilakukan dengan mekanisme penambatan nitrogen yang berbeda oleh bakteri, yaitu bergantung pada kondisi seluler dan fisiologis. Bakteri aerob

melakukan mekanisme proteksi terhadap inhibitor berupa konsentrasi oksigen intraseluler yang tinggi dengan mereduksi masuknya oksigen melalui kombinasi metabolisme dengan polisakarida ekstraseluler (Iwata *et al.*, 2012).

Iwata *et al.* (2012) menjelaskan bahwa akumulasi amonium juga dipengaruhi oleh serangkaian reaksi metabolisme nitrogen. Molekul nitrogen mengalami reduksi selama proses fiksasi nitrogen dengan transfer elektron berlipat ganda yang akan menghasilkan amonium untuk sintesis biomolekul selanjutnya dan melepaskan hidrogen seperti pada persamaan reaksi berikut:



Reduksi dari molekul nitrogen menjadi amonium dikatalisis di semua organisme penambat nitrogen menggunakan kompleks enzim *nitrogenase* yang bergantung kepada ATP dengan reaksi yang berenergi tinggi seperti yang dijelaskan pada Gambar 3. Elektron yang ditransfer pada proses fiksasi nitrogen merupakan hasil dari reduksi ferredoksin atau flavodoksin melalui azoferedoksin menjadi molibdoferedoksin. Protein Nif akan melakukan hidrolisis 16 molekul ATP yang akan digunakan untuk sumber energi pada proses fiksasi nitrogen. (Iwata *et al.*, 2012).



Gambar 3. Skema reaksi dan mekanisme molekuler fiksasi Nitrogen (Iwata *et al.*, 2012)

Berdasarkan hasil uji korelasi *Pearson* dapat diketahui bahwa jumlah sel bakteri endofit tidak memiliki korelasi atau hubungan dengan nilai akumulasi amonium yang dihasilkan, karena peningkatan jumlah sel bakteri endofit yang tidak diikuti dengan peningkatan nilai akumulasi amonium. Nilai akumulasi amonium tidak dipengaruhi oleh jumlah sel bakteri endofit, tetapi dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti sumber nitrogen, ketersediaan energi berupa ATP, dan siklus hidup bakteri (Jorgensen *et al.*, 1999).

Penurunan jumlah nitrogen dalam bentuk amonium terjadi saat terjadi peningkatan produk berupa asam amino yang digunakan untuk proses metabolisme bakteri endofit. Sumber nitrogen berupa amonium menjadi sangat berperan penting dalam siklus nutrisi bakteri endofit (Jorgensen *et al.*, 1999).

Bakteri endofit berada pada fase adaptasi (*lag phase*) pada hari ke-1, yaitu pada fase ini bakteri secara aktif melakukan metabolisme terhadap reaktan yang akan menghasilkan metabolit seperti

amonium. Bakteri pada fase ini juga melakukan pembentukan dan aktivasi enzim, yaitu salah satunya enzim *nitrogenase* yang digunakan dalam proses fiksasi nitrogen (Monod, 2007).

Kusnadi dkk. (2003) menjelaskan bahwa pada fase adaptasi (*lag phase*) bakteri berada pada tahap penyesuaian yang ditandai dengan adanya peningkatan aktivitas metabolik seperti fiksasi nitrogen sampai sintesis sel mencapai taraf maksimum. Pelczar dan Chan (2005) juga menerangkan bahwa pada fase adaptasi (*lag phase*) bakteri mengalami peningkatan substansi intraseluler.

Penurunan nilai akumulasi amonium pada pengamatan hari ke-2 yang justru diikuti dengan peningkatan jumlah sel bakteri endofit menunjukkan bahwa sejumlah besar amonium dimanfaatkan bakteri endofit sebagai sumber nitrogen dengan mengubahnya menjadi produk seperti asam amino yang selanjutnya akan digunakan untuk melakukan proses metabolisme dan pembelahan sel, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel bakteri endofit. Sumber nitrogen yang dibutuhkan bakteri endofit saat melakukan pembelahan sel cukup banyak, karena bakteri berada pada fase perbanyakan atau terjadi peningkatan jumlah sel sampai batas tertentu (Purwoko, 2007). Bakteri pada fase perbanyakan (*log phase*) mengalami peningkatan massa dan volume sel, tetapi konsentrasi metabolit yang dihasilkan cenderung konstan atau tidak mengalami peningkatan (Kusnadi dkk., 2003).

Pada hari ke-2 dan hari ke-3 menunjukkan jumlah sel bakteri endofit memiliki selisih yang hanya sedikit atau berada pada fase statis (Gambar 2), yaitu kondisi dimana konsentrasi enzim dan hasil metabolisme dalam keadaan konstan (Monod, 2007). Sel bakteri pada fase ini umumnya melakukan mekanisme bertahan dengan tidak banyak melakukan aktivitas metabolisme untuk menghemat sumber energi dengan mengurangi proses fiksasi nitrogen yang membutuhkan banyak energi berupa ATP (Purwoko, 2007).

Fase statis sel bakteri endofit hanya berlangsung dalam kurun waktu 24 jam, karena beberapa bakteri hanya mampu bertahan pada fase statis dalam beberapa jam kemudian mengalami fase kematian (Purwoko, 2007). Bakteri akan mengalami fase kematian (*death phase*) ketika jumlah nutrisi pada media mulai menurun yang akan diikuti dengan penurunan jumlah sel bakteri (Kusnadi dkk., 2003).

Jumlah sel bakteri endofit mengalami penurunan pada fase kematian juga diikuti dengan penurunan nilai akumulasi amonium.

Penurunan nilai akumulasi amonium pada fase kematian disebabkan karena sel bakteri endofit akan mengubah amonium menjadi nitrogen anorganik sebagai sumber nutrisi untuk mempertahankan sel dari kematian (Purwoko, 2007).

Kemampuan akumulasi amonium isolat B3 sesuai dengan data penelitian Anggara dkk. (2014) yang menunjukkan bahwa isolat B3 memiliki kemampuan mensekresi hormon IAA lebih besar dibandingkan isolat lainnya, yaitu sebesar 0,5525 ppm. Isolat B3 dengan nilai akumulasi amonium yang stabil berpotensi untuk dikembangkan, karena tanaman membutuhkan sumber nitrogen yang seimbang secara terus-menerus untuk proses metabolisme (Hardoim *et al.*, 2008). Penelitian Tarigan dkk. (2013) menunjukkan bahwa isolat bakteri N3 dan I3 paling berpotensi untuk dimanfaatkan sebagai biofertiliser. Isolat tersebut dikatakan potensial karena memiliki nilai akumulasi amonium dan sekresi hormon IAA yang stabil dan lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya selama 6 hari masa inkubasi.

Kemampuan akumulasi amonium isolat B2 adalah yang paling rendah yang sesuai dengan kemampuan mensekresi hormon IAA, yaitu sebesar 0,3552 ppm. Salisbury dan Ross (1995) menyatakan bahwa kemampuan akumulasi amonium dan kadar hormon IAA yang dihasilkan memiliki nilai yang sebanding, yaitu kadar hormon IAA akan tinggi jika akumulasi amonium memiliki nilai yang besar. Hal tersebut dikarenakan hormon IAA memiliki rumus bangun yang tersusun atas unsur NH yang diperoleh dari amonium (NH_4^+).

SIMPULAN

Isolat bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi, yaitu isolat A1, B1, B2, dan B3 memiliki kemampuan dalam akumulasi amonium yang ditunjukkan dengan peningkatan nilai akumulasi amonium setelah 24 jam masa inkubasi. Isolat bakteri endofit yang paling potensial dalam penambatan nitrogen ditunjukkan oleh isolat B3 dengan nilai akumulasi amonium yang stabil selama 6 hari masa inkubasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anggara BS, Yuliani, dan Lisdiana L, 2014. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Endofit Penghasil Hormon *Indole Acetic Acid* dari Akar Tanaman Ubi Jalar. *LenteraBio*, 3 (3): 160-167.

- Bandara WMMS, Seneviratne G, and Kulasoorya SA, 2006. Interactions Among Endophytic Bacteria and Fungi: Effects and Potentials. *Journal Biosci.* 31: 645-650.
- Dixon R and Kahn D, 2004. Genetic Regulation of Biological Nitrogen Fixation. *Nature Reviews*, 2: 621-631.
- Fay P, 1992. Oxygen Relations of Nitrogen Fixation in Cyanobacteria. *Microbiological Reviews*, 56 (2): 340-373.
- Hadioetomo RS, 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek Teknik dan Prosedur Dasar Laboratorium*. Jakarta: Gramedia.
- Hardoim PR, van Overbeek LS, and van Elsas JD, 2008. Properties of Bacterial Endophytes and Their Proposed Role in Plant Growth. *Trends in Microbiology*, 16 (10): 463-471.
- Iwata K, Yu SS, Azlin NN, and Omori T, 2012. Ammonia Accumulation of Novel Nitrogen-Fixing Bacteria. *Biotechnology - Molecular Studies and Novel Applications for Improved Quality of Human Life*, Prof. Reda Sammour (Ed.), ISBN:978-953-51-0151-2.
- Jha PN, Gupta G, Jha P, and Mehrotra R., 2013. Association of Rhizospheric/Endophytic Bacteria with Plants: A Potential Gateway to Sustainable Agriculture. *Greener Journal of Agricultural Sciences*, 3: 73-84.
- Jorgensen NOG, Kroer N, Coffin RB, and Hoch MP, 1999. Relations between Bacterial Nitrogen Metabolism and Growth Efficiency in an Estuarine and an Open-water Ecosystem. *Journal Aquatic Microbial Ecology*, 18: 247-261.
- Khan Z and Doty SL, 2009. Characterization of Bacterial Endophytes of Sweet Potato Plants. *Plant Soil Journal DOI 10.1007/s11104-009-9908-1*.
- Koomnok C, Teamroong N, Rerkasem B, and Lumyong S, 2007. Diazotroph Endophytic Bacteria in Cultivated and Wild Rice in Thailand. *Journal ScienceAsia*, 33: 429-435.
- Kusnadi, Peristiwati, Syulasma A, Purwianingsih W, dan Rochintaniawati D, 2003. *Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Ludden PW, 2001. Nitrogenase Complex. *Encyclopedia of Life Science: 1-8*.
- Lakitan B, 2008. *Dasar-dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada.
- Monod J, 2007. The Growth of Bacterial Cultures. *Microbiol*, 3: 371-394.
- Nair AJ, 2008. *Introduction to Biotechnology and Genetic Engineering*. New York: IHS Engineering360.
- Pelczar MJ dan Chan ECS, 2005. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1*. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Purwoko T, 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT. Bumi Aksara.
- Sagala TB, 2009. Seleksi dan Uji Aktivitas Fiksasi Nitrogen (N₂) Bakteri Metanotrof Asal Sawah pada Konsentrasi Oksigen (O₂) Berbeda. *Skripsi*. Tidak Dipublikasikan. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Salisbury FB and Ross CW, 1995. *Fisiologi Tumbuhan Jilid 3: Hormon dan Zat Pengatur Tumbuh, Hormon Auksin dan Giberelin*. Bandung: Penerbit ITB Bandung.
- Tarigan ST, Jamilah I, dan Elimasni, 2013. Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Rizosfer Tanah Perkebunan Kedelai (*Glycine max L.*). *Saintia Biologi*, 1 (2): 42-48.
- Van Elsas JD, Jansson JK, and Trevors, JT, 2007. *Modern Soil Microbiology Second Edition*. New York: CRC Press.
- Youssef HH, Fayez M, Monib M, and Hegazi N, 2004. *Gluconacetobacter diazotrophicus*: A Natural Endophytic Diazotroph of Nile Delta Sugarcane Capable of Establishing An Endophytic Association with Wheat. *Journal Biol Fertil Soils* 39: 391-397.