

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

Salah satu bakteri yang mampu mengikat nitrogen di udara yang tidak simbiosis adalah *Azotobacter*. Koloni *Azotobacter* dapat diisolasi dari sampel tanah yang bersifat alkali yang ditumbuhkan pada medium nitrogen free manitol.

Alat dan Bahan

- Lampu spirtus
- Lup inokulasi
- Objek gelas
- Bak warna dan rak
- Botol semprot
- Cawan petri steril
- 1 gram sampel tanah
- 50 ml medium nitrogen free manitol broth dalam erlenmeyer
- 1 tabung agar diri (12 – 15 ml) nitrogen free manitol agar
- Reagent pewarnaan gram

Cara Kerja

1. Inokulasi medium nitrogen free manitol broth dengan 1 gram tanah, campurkan.
2. Inkubasikan kultur selama 3 – 6 hari, pada suhu kamar.
Erlenmeyer berisi kultur jangan digoyang !
3. Setelah tumbuh lapisan seperti lendir pada permukaan medium, dengan menggunakan teknik inokulasi, pindahkan satu up lapisan tadi pada medium nitrogen free manitol agar dalam cawan petri.
4. Inkubasikan 1 – 2 x 24 jam pada suhu kamar.
5. Lihat pertumbuhannya yang seperti lendir dan mengkilat.
6. Lakukan pewarnaan Gram.

7. Catat hasil pengamatannya pada tabel pengamatan !

Hasil Pengamatan

	Koloni 1	Koloni 2	Koloni 3
- Karakteristik Koloni
- Pewarnaan Gram
- Bentuk dan susunan sel			
- Ada/tidaknya pigmen yang larut dalam air			
- Fluoresensi hijau di bawah uv			

Pertanyaan

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

