

**LAPORAN AKHIR**  
**PROYEK PENGEMBANGAN PROFESI**



**PERAN *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA***  
**(PGPR) DALAM PERTUMBUHAN PADI VAR. CIHERANG**  
**PADA FASE VEGETATIF**

**Oleh:**

**Yemima Meidiyanti, 31180170**

**Violinsky Vindy, 31180213**

**Marzellyno Rafhael Mailissa, 31180257**

**FAKULTAS BIOTEKNOLOGI**  
**UNIVERSITAS KRISTEN DUTA WACANA**  
**YOGYAKARTA**

**2021**

## HALAMAN PENGESAHAN

Judul Proyek Pengembangan Profesi:

Peran *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dalam Pertumbuhan Padi  
Var. Ciherang Pada Fase Vegetatif

1. Nama Mitra PPP : Fakultas Teknobiologi Universitas  
Surabaya (UBAYA)
2. Nama Mahasiswa 1 / NIM : Yemima Meidiyanti / 31180170  
Nama Mahasiswa 2 / NIM : Violinsky Vindi / 31180213  
Nama Mahasiswa 3 / NIM : Marzellyno Rafhael Mailissa / 31180257
3. Lokasi Kegiatan : Universitas Surabaya
- Wilayah : Jl. Raya Kalirungkut, Kali Rungkut, Kec.  
Rungkut
- Kota : Surabaya
- Provinsi : Jawa Timur
4. Waktu Pelaksanaan : 9 Agustus 2021 – 1 Oktober 2021  
Kegiatan
5. Luaran yang dihasilkan : Laporan akhir, Poster, dan Video

Yogyakarta, 16 November 2020

Mengetahui  
Pembimbing Mitra

Johan Sukweenadhi Ph. D

Menyetujui  
Dosen Pembimbing

Dr. Dhira Satwika, M.Sc.

Mengetahui  
Dekan Fakultas

Drs. Kisworo, M. Sc

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN PENGESAHAN</b> .....	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>iii</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>vii</b>
<b>PENDAHULUAN</b> .....	<b>1</b>
1.1. Latar Belakang .....	1
1.2. Roadmap Kegiatan .....	2
1.3. Tujuan.....	3
<b>STUDI PUSTAKA</b> .....	<b>4</b>
2.1. Pupuk Hayati .....	4
2.2. Peran <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR) bagi Lingkungan dan Tanaman .....	4
2.3. <i>Beijerinckia fluminensis</i> (G3).....	5
2.4. <i>Rhizobium pusense</i> (G4c).....	6
2.5. Padi Ciherang .....	6
2.6. Uji Skrining <i>In Vitro</i> Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman .....	7
a. Uji Produksi Siderofor.....	7
b. Uji Produksi IAA.....	8
c. Uji Pelarut Fosfat.....	8
<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b> .....	<b>9</b>
3.1. Aktivitas Kegiatan .....	9
3.2. Profil Proyek Penelitian Pengembangan Konsorsium Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman Sebagai Pupuk Hayati .....	10
3.3. Metode Pencapaian.....	13
3.3.1. Alat.....	15
3.3.2. Bahan.....	15
3.3.3. Metode Kerja.....	16
3.3.4. Pemilihan Benih Padi.....	16
3.3.5. Germinasi Benih Padi .....	16
3.3.6. Pembuatan Media.....	17
3.3.7. Pemurnian dan Peremajaan Isolate G3 dan G4c .....	19

3.3.8.	Pembuatan Media Tanah <i>Artificial</i> .....	20
3.3.9.	Pembuatan Dosis Isolate G3 dan G4c .....	20
3.3.10.	Inokulasi isolate G3, G4c, dan Konsorsium pada Benih Padi Var. Ciherang.....	21
3.3.11.	Pemeliharaan bibit Padi dan Perhitungan Parameter Pertumbuhan	22
3.3.12.	Pengukuran Panjang <i>Aerial Part</i> .....	23
3.3.13.	Pengukuran Panjang Akar.....	23
3.3.14.	Perhitungan Berat Segar Total .....	23
3.3.15.	Perhitungan Berat Segar Akar.....	23
3.3.16.	Perhitungan Berat Kering Akar.....	24
3.3.17.	Perhitungan Berat Kering Aerial Part .....	24
3.3.18.	Uji Skinning in vitro isolat G3 dan G4c.....	24
3.4.	Hasil dan Pembahasan .....	26
3.4.1.	Pemurnian Koloni Tunggal Isolat <i>Beijerinckia fluminensis</i> G3 dan <i>Rhizobium pusense</i> G4c .....	26
3.4.2.	Uji Skringing In vitro Isolat <i>Beijerinckia fluminensis</i> G3 dan <i>Rhizobium pusense</i> G4c .....	28
3.4.3.	Pengaruh Perlakuan Isolat Bakteri G3, G4c dan Konsorsium Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi Var. Ciherang .....	36
	<b>KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>40</b>
4.1.	Kesimpulan.....	40
4.2.	Saran .....	40
	<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>42</b>
	<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>45</b>

## **DAFTAR TABEL**

<b>Tabel 1.</b> Roadmap Kegiatan .....	3
<b>Tabel 2.</b> Hasil pemurnian koloni tunggal isolat G3 dan G4c .....	27
<b>Tabel 3.</b> Hasil nilai absorbansi dan konsentrasi IAA isolat G3 dan G4c .....	31

## DAFTAR GAMBAR

<b>Gambar 1.</b> Roadmap Penelitian Pupuk Hayati .....	11
<b>Gambar 2.</b> Skema Kerja Penelitian P3 .....	14
<b>Gambar 3.</b> Proses germinasi bening padi Var. Cigerang hari pertama .....	17
<b>Gambar 4.</b> Proses pembuatan media (a) TSA dan TSB, (b) Pikovskaya agar, dan (c) King B modifikasi.....	19
<b>Gambar 5.</b> Proses aktifasi dan pemurnian isolate G3 dan G4c .....	20
<b>Gambar 6.</b> Proses pembuatan dosis bakteri G3, G4c, dan konsorsium .....	21
<b>Gambar 7.</b> Kondisi padi hari ke-0 setelah inokulasi isolate bakteri .....	22
<b>Gambar 8.</b> Proses pengukuran parameter pertumbuhan padi .....	24
<b>Gambar 9.</b> Hasil inokulasi bakteri G3 dan G4c pada medim Nfb (Sukweenadhi, 2019) .....	28
<b>Gambar 10.</b> Hasil inokulasi bakteri G3 dan G4c pada medium TSA (Susanto, 2021) .....	28
<b>Gambar 11.</b> Perbedaan warna positif pada larutan standar IAA (A) serta isolate G3 dan G4c (B) setelah ditetesi reagen Salkowski dan diinkubasi pada ruang gelap. ....	30
<b>Gambar 12.</b> Hasil uji produksi siderofor. (a) isolat G3 dan (b) isolat G4c yang menunjukkan hasil negatif .....	32
<b>Gambar 13.</b> .....	33
<b>Gambar 14.</b> Hasil uji pelarut fosfat. (a) isolate G3 dan (b) isolate G4c yang menunjukkan hasil negatif .....	34
<b>Gambar 15.</b> Zona bening yang menunjukkan hasil positif disekitar koloni (Sukweenadhi, 2019).....	35
<b>Gambar 16.</b> Nilai Rata-rata Parameter Pertumbuhan Berat Segar Total, Berat Segar Akar, Berat Kering Akar dan Berat Kering Aerial Part.....	36
<b>Gambar 17.</b> Nilai Rata-rata Parameter Pertumbuhan Panjang Akar dan Panjang Aerial Part .....	37
<b>Gambar 18.</b> Grafik Perkiraan Rata-Rata Marginal Perhitungan Parameter Pertumbuhan .....	38

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Padi yang telah berkecambah .....	45
Lampiran 2. Penanaman benih pada media tisu basah.....	45
Lampiran 3. Pencetakan media dalam LAF.....	45
Lampiran 4. Proses inokulasi isolate G3 dan G4c .....	45
Lampiran 7. Kondisi tanah setelah diberi kultur bakteri.....	46
Lampiran 6. Proses penyiraman kultur bakteri dan pemindahan tanah ke dalam pot .....	46
Lampiran 5. Penimbangan pasir sebelum dimasukkan ke dalam pot .....	46
Lampiran 11. Pertumbuhan padi pada hari ke-9 .....	47
Lampiran 10. Pertumbuhan padi pada hari ke-6 .....	47
Lampiran 9. Pertumbuhan padi pada hari ke-3 .....	47
Lampiran 8. Proses penanaman kecambah padi ke dalam media tanah .....	47
Lampiran 14. Uji produksi IAA dalam ruang gelap .....	48
Lampiran 13. Proses pembuatan reagen Salkowski di ruang asam .....	48
Lampiran 15. Uji pelarut fosfat dan produksi siderofor.....	48
Lampiran 17. Pengukuran <i>aerial part</i> pada hari ke-46 G3 (i), G4 (ii), Konsorsium (iii), dan Kontrol negatif (iv).....	49
Lampiran 16. Kurva standar dan perhitungan uji IAA .....	49
Lampiran 18. Pengukuran panjang akar pada hari ke-46 G3 (i), G4 (ii), Konsorsium (iii), dan Kontrol negatif (iv) .....	50

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Jumlah populasi manusia telah berkembang pesat, dimana tercatat diperkirakan terdapat lebih dari 7,9 miliar jiwa. Hal ini akan berdampak terhadap banyak aspek, salah satunya adalah sektor pertanian. Indonesia yang merupakan negara agraris akan kesulitan dalam memenuhi kebutuhan pangan. Berdasarkan data yang diperoleh dari Badan Pusat Statistik pada tahun 2020, beras yang diproduksi rata-rata sebanyak 3,9 juta ton. Angka ini berpotensi menurun setiap tahunnya yang disebabkan oleh banyak faktor seperti *global warming*, pencemaran lahan dan berkurangnya lahan pertanian sehingga berpotensi menurunkan kualitas dan kuantitas produk pangan. Berkembangnya sektor industri mengakibatkan teradinya pencemaran lingkungan, senyawa pencemar seperti kandungan logam berat dapat berdampak buruk bagi lingkungan serta mengancam kesehatan manusia. Berdasarkan faktor yang ada, diperlukan suatu metode yang bersifat ramah lingkungan dalam bidang pertanian untuk mengatasi masalah tersebut,

Salah satu metode yang dapat digunakan untuk meningkatkan produktivitas tanaman komoditas seperti padi adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) sebagai pupuk hayati. PGPR adalah kelompok bakteri yang hidup di sekitar perakaran tanaman dan menguntungkan tanaman dengan kemampuannya dalam mensintesis zat hara dan juga hormone pertumbuhan yang dapat membantu pertumbuhan tanaman. Selain itu, PGPR dapat mendegradasi senyawa toksik yang berada dalam tanah akibat pencemaran lingkungan, menjadi nutrisi yang dibutuhkan oleh tanaman untuk menunjang pertumbuhannya serta dapat merestorasi kembali tanah dari senyawa berbahaya. Contoh bakteri PGPR seperti *Beijerinckia fluminensis* (G3) dan



*Rhizobium pusense* (G4c), berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Suriadikarta dan Simanungkalit (2006); Gofar et al., (2012); Marlina et al., (2013) didapatkan hasil bahwa kedua bakteri ini mampu meningkatkan produktivitas dari tanaman padi.

Penelitian Proyek Pengembangan Profesi (P3) ini dilakukan dalam suatu rangkaian penelitian salah satu dosen fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya tentang pengembangan Konsorsium Bakteri-Pemacu-Pertumbuhan-Tanaman Dalam Peningkatan Yield Dan Ketahanan Tanaman Komiditas di Indonesia, sehingga rancangan penelitian P3 ini berfokus pada pengujian potensi isolat *Beijerinckia fluminensis* G3, *Rhizobium pusense* G4c sebagai inokulan PGPR yang ditentukan berdasarkan kemampuannya dalam menghasilkan hormon IAA, siderofor, dan fosfat serta pengaruhnya dalam pertumbuhan padi Var. Ciherang pada fase vegetatif.

## 1.2. Roadmap Kegiatan

Minggu	Nama Kegiatan	Deskripsi
I	Perkenalan dan penyusunan metode penelitian	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perkenalan dengan seluruh staff di laboratorium maupun fakultas Teknobiologi</li> <li>• Perkenalan dengan beberapa praktikan yang sedang melaksanakan penelitian di lab</li> <li>• Perkenalan lingkungan dan peralatan yang ada di laboratorium</li> <li>• Melakukan diskusi Bersama dengan pembimbing dari UBAYA dalam menyusun metode penelitian</li> </ul>
II	Persiapan alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Sterilisasi alat-alat yang telah tersedia</li> <li>• Pembuatan media TSB, TSA</li> </ul>
III	Persiapan bahan dan benih padi yang akan digunakan dalam penelitian dan inokulasi kultur bakteri G3 dan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pembuatan medium TSB dan TSA yang baru</li> <li>• Pencetakan medium ke dalam petri dish</li> </ul>

	G4C	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Perendaman benih padi ciherang dalam air selama 24 jam</li> <li>• Pananaman benih padi ke dalam media tisu lembab</li> </ul>
IV	Melakukan subkultur bakteri G3 dan G4C dan ALT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Inokulasi koloni bakteri tunggal ke dalam medium TSB</li> <li>• Pengamatan absorbansi kultur bakteri</li> <li>• Menghitung koloni yang tumbuh dengan metode <i>spread plate</i></li> <li>• Pembuatan media Pikovskaya ½ kuat dan King's B modifikasi</li> </ul>
V	Pengerjaan side project dari pembimbing lapangan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Isolasi mikroorganisme agen penyakit pada tanaman hidroponik</li> </ul>
VI	Pembuatan media dan Inokulasi bakteri	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pembuatan media TSB dan TSA yang abru</li> <li>• Pengukuran ALT</li> </ul>
VII	Penanaman	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Membuat media tanah <i>artificial</i></li> <li>• Sterilisasi media tanah</li> <li>• Pengukuran ALT</li> <li>• Pengenceran kultur bakteri G3 dan G4c dalam TSB sebanyak 10x</li> <li>• Penanaman padi yang sudah berkecambah ke media tanah</li> </ul>
VIII	Uji In Vitro dan Perhitungan Parameter Pertumbuhan	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Melakukan uji IAA, Siderofor, dan Fosfat</li> <li>• Mengukur parameter padi setiap 48 jam</li> </ul>

**Tabel 1.** Roadmap Kegiatan

### 1.3. Tujuan

1. Mengetahui kemampuan bakteri G3 dan G4c dalam menghasilkan siderofor, hormone IAA, serta melarutkan fosfat.
2. Untuk mengetahui efektivitas bakteri G3, G4c, dan konsorsiumnya terhadap parameter pertumbuhan padi Var. Ciherang.

## **BAB II**

### **STUDI PUSTAKA**

#### **2.1. Pupuk Hayati**

Pupuk hayati merupakan gabungan dari berbagai komponen sel hidup yaitu mikroorganisme yang dapat berkolonisasi di daerah perakaran tanaman serta memiliki kemampuan dalam mengikat nitrogen dan fosfat yang terkenal sukar larut sehingga berpotensi untuk menyuburkan tanah dan mengoptimalkan pertumbuhan tanaman. Pupuk hayati akan membantu meningkatkan kesuburan tanah, menyediakan unsur hara, dekomposisi bahan organik dan mempersiapkan kondisi lingkungan yang baik untuk bakteri rhizosfer (Irianto, 2010). Berbagai isolat yang digunakan untuk pupuk hayati seperti *Beijerinckia sp.* dan *Rhizobium sp.* (Thuar et al., 2004) dapat membantu meningkatkan kesuburan tanah dan kualitas hasil panen.

#### **2.2. Peran *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) Bagi**

##### **Lingkungan dan Tanaman**

*Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) merupakan salah satu upaya dalam mengurangi penggunaan pupuk kimia, bioremediasi dan memperbaiki kualitas tanah. PGPR merupakan suatu kelompok mikroorganisme yang hidup di daerah rhizosfer dan mengkoloni akar. Penggunaan PGPR dapat memperbaiki pertumbuhan tanaman, meningkatkan pertumbuhan vegetative tanaman pada kondisi lingkungan yang buruk. Selain memproduksi IAA, bakteri rhizosfer juga mampu melarutkan fosfat dan merupakan agen biocontrol dengan cara menginduksi system kekebalan tanaman (Marista *et.al.* 2013). Mikroba memiliki peran dalam meningkatkan kesuburan tanah serta bioremediasi melalui berbagai aktifitasnya yaitu meningkatkan kandungan unsur hara didalam tanah, meningkatkan efisiensi penerapan unsur hara, menekan mikroba tular tanah pathogen melalui kompetisi, memproduksi zat pengatur tubuh yang dapat

meningkatkan perkembangan system perakaran tanaman, meningkatkan aktivitas mikroba tanah heterotroph yang bermanfaat melalui aplikasi bahan organic (Akhtar, 2012).

Keberhasilan PGPR ditentukan oleh mikroba yang digunakan, mikroba yang dipilih harus melalui seleksi isolate unggul, dimana keunggulannya diuji efektivitas terhadap pertumbuhan tanaman, seleksi bakteri penghambat N melalui uji kuantitas N, mikroba pelarut fosfat diseleksi berdasarkan pelarutan P tidak larut secara kualitatif. Kemudian perbanyak Isolat yang unggul sebagai inokulan dalam carrier, populasi mikroba yang akan digunakan sebagai produk harus tinggi ( $>10^8$  CFU/ g). Keberhasilan PGPR juga ditentukan oleh pengaplikasian dilapangan harus tepat baik waktu, dosis maupun cara pengaplikasian PGPR. Inokulasi mikroba yang bermanfaat akan lebih efektif apabila dilakukan pada saat penanaman benih agar mikroba tersebut akan segera mengkolonisasi bakteri yang berkecambah (Dewi, 2015).

### 2.3. *Beijerinckia fluminensis* (G3)

*Beijerinckia* sp. merupakan genus bakteri yang berasal dari famili *Beijerinckiaceae*, bakteri ini ciri-ciri seperti memiliki sel tunggal yang berbentuk lurus atau melengkung (Sutanto, 2016). Salah satu spesies dari genus *Beijerinckia* sp. yaitu *Beijerinckia fluminensis* merupakan bakteri yang terdiri dari 2 bakteri yaitu *Beijerinckia indica* dan *Beijerinckia mobilis* (Oggerin, 2009). *B. fluminensis* memiliki karakterisiti seperti mampu memanfaatkan gula (glukosa, fruktosa, dan laktosa) sebagai sumber nutrisi, sehingga pertumbuhan koloni bakteri ini menjadi sangat optimal ketika ditumbuhkan pada media padat TSA (*Tryptic Soy Agar*), bakteri ini juga bersifat aerob dan tumbuh optimal pada kondisi oksigen yang tinggi, tumbuh optimal pada suhu 20°-30°C dan pH 3,0-9,0. Selain glukosa, pertumbuhan bakteri ini juga menjadi lebih optimal dengan kehadiran dari Nitrogen, *L-tyrosine*, *Ferrous Sulfate*, *Ammonium molbydate tetrahydrate*, dan magnesium sulfat. *B. fluminensis* juga mampu dalam memproduksi

melanin yang mampu membantu kehidupan *B. fluminensis* dalam kondisi yang ekstrim (Joshi, 2021). *B. fluminensis* juga memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormone IAA (*Indole Acetic Acid*) serta mampu memproduksi siderofor dalam jumlah yang tinggi namun tidak memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat, sehingga bakteri ini kurang efektif untuk PGPR (Sukweenadhi, 2019).

#### **2.4. *Rhizobium pusense* (G4c)**

*Rhizobium pusense* adalah bakteri yang berasal dari genus *Rhizobium* sp., bakteri ini memiliki batang dan juga flagel. Bakteri ini mampu mengikat nitrogen dari udara sehingga dapat memenuhi 80% dari kebutuhan nitrogen tanaman, namun proses pengikatan nitrogen akan menjadi optimum jika unsur nitrogen yang terdapat di tanah (tempat tumbuh *R. pusense*) rendah, sehingga semakin tinggi unsur nitrogen yang terdapat di tanah akan menurunkan kemampuan *R. pusense* untuk mengikat nitrogen dari udara (Sutanto, 2021). Selain itu, *R. pusense* juga memiliki kemampuan untuk menghasilkan hormon IAA dalam jumlah yang tinggi. Kemampuan menghasilkan hormone IAA dari *R. pusense* sedikit lebih tinggi jika dibandingkan dengan *B. fluminensis* namun perbedaannya tidak berbeda nyata. *R. pusense* juga mampu menghasilkan siderofor dan melarutkan senyawa fosfat, sehingga *R. pusense* berpotensi tinggi sebagai PGPR yang efektif (Sukweenadhi, 2019).

#### **2.5. Padi Ciherang**

Tanaman padi (*Oryza sativa* L.) merupakan tanaman komoditas di Indonesia yang merupakan salah satu makanan pokok yang dibutuhkan masyarakat Indonesia dengan permintaan pasar yang tinggi setiap tahunnya. Ciherang merupakan padi varietas unggul golongan Indika yang berasal dari varietas nonlocal. Padi varian ini berasal dari hasil persilangan antara varietas padi IR64 dengan galur IR lainnya. Padi varian Ciherang memiliki keunggulan dimana lebih resisten terhadap penyakit hawar daun

bakteri, produktivitas tinggi, mutu dan rasa nasi setara dengan varietas IR64 yang juga disukai petani. Selain itu padi ini dapat menghasilkan 8,5 ton/ha dengan rata-rata hasil mencapai 6,0 ton/ha. Beberapa sumber mengatakan bahwa penggunaan varietas Ciherang didasari oleh bobot gabah lebih berat, nasi yang pulen dan benih yang mudah didapatkan. Umur padi Var. Ciherang berkisar 116-125 hari dengan tinggi tanaman mencapai 107-115 cm dan jumlah anakan produktif mencapai 14-17 batang. (Marlina *et. al.* 2017).

## **2.6. Uji Skrining *In Vitro* Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman**

Uji *in vitro* merupakan uji yang dilakukan di dalam laboratorium dengan menggunakan mikroorganisme yang berhasil diisolasi dari habitatnya untuk menguji potensi dari bakteri tersebut sebagai bakteri pemacu pertumbuhan tanaman. Uji skining *in vitro* yang dilakukan diantaranya uji kemampuan memproduksi IAA, siderofor serta kemampuan melarutkan forfat.

### **a. Uji Produksi Siderofor**

Siderofor merupakan senyawa pengompleks  $Fe^{3+}$  atau pengkelat besi spesifik yang diproduksi oleh beberapa jenis mikroba dan berfungsi untuk menyembunyikan unsur besi di lingkungan rizosfir, hal tersebut menyebabkan bakteri pathogen tidak dapat tumbuh disekitar tanaman. Bakteri penghasil siderofor akan mengikat unsur Fe diluar dinding sel dan kemudian Fe akan diangkut kedalam membrane sel. CAS menyediakan nutrisi bagi bakteri kecuali unsur Fe yang jumlahnya terbatas, hanya bakteri siderofor yang mampu hidup dan berkembang biak pada media tersebut. Hasil positif dari uji tersebut ditandai oleh munculnya warna kuning (oranye) di sekitar bakteri (Toppo dan Tiwari, 2015).

**b. Uji Produksi IAA**

Uji analisa hormone IAA pada isolate bakteri yang tumbuh di media dapat menggunakan larutan reagen salkowski. Hasil positif dari uji tersebut ditandai oleh adanya perubahan warna menjadi merah muda setelah diinkubasi selama 30 menit. Reagen salkowski akan bereaksi dengan IAA yang terkandung didalam larutan tersebut, dimana semakin banyak konsentrasi IAA yang terkandung pada larutan akan menyebabkan semakin banyak reagen salkowski yang bereaksi dengan IAA sehingga warna dari hasil reaksi tersebut pun akan semakin pekat. Dalam proses perhitungan IAA yang dihasilkan oleh bakteri, dibutuhkan pula larutan standar IAA untuk mendapatkan persamaan kurva standar IAA (Sukmadewi *et. Al.*, 2015).

**c. Uji Pelarut Fosfat**

Bakteri pelarut fosfat adalah bakteri yang dapat melarutkan fosfat yang sulit larut sehingga dapat diserap oleh tanaman. Mikroorganisme pelarut fosfat bisa didapatkan di daerah yang kandungan fosfatnya rendah, salah satunya disekitar perakaran tanaman karena bakteri tersebut dapat menggunakan fosfat dalam jumlah yang sedikit atau tidak ada fosfat untuk keberlangsungan metabolisme bakteri tersebut. Bakteri pelarut fosfat adalah bakteri tanah yang mampu mensekresi asam organik sehingga akan menurunkan pH tanah dan memecahkan ikatan pada beberapa bentuk senyawa fosfat dalam larutan tanah. Uji positif pelarut fosfat pada media phykovskaya dengan munculnya zona bening (Silitonga, 2008).

## **BAB III**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **3.1. Aktivitas Kegiatan**

Proyek Pengembangan Profesi dilaksanakan di Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya di Jl. Raya Kalirungkut, Kali Rungkut, Kec. Rungkut, Kota Surabaya, Jawa Timur yang bertujuan untuk menguji pengaruh pemberian 2 jenis bakteri yang diisolasi dari rhizobium tanaman padi var. Barak Cenana yang juga berpotensi sebagai bakteri pemacu pertumbuhan tanaman terhadap pertumbuhan tanaman padi Ciherang pada fase vegetatif. Kegiatan ini dimulai pada tanggal 9 Agustus 2021 – 1 Oktober 2021, terdiri dari beberapa rangkaian aktivitas yang dilaksanakan di Laboratorium Bioteknologi Tanaman dan Laboratorium Bioteknologi Mikroorganisme, Fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya (UBAYA) berupa suatu penelitian yang mendukung proyek penelitian Pak Johan selaku salah satu dosen Fakultas Teknobiologi untuk mencari jawaban dari suatu percobaan yang dirancang sesuai dengan kreativitas mahasiswa magang. Adapun rangkaian kegiatan yang dilakukan sebagai berikut:

1. Orientasi pengenalan dengan para staf, dosen, laboran serta teman-teman dari Fakultas teknobiologi Ubaya
2. Observasi dan deskripsi kondisi umum seluruh gedung dan laboratorium di fakultas Teknobiologi Universitas Surabaya (UBAYA)
3. Konsultasi dan perancangan metode penelitian
4. Sterilisasi alat dan pembuatan media
5. Pemurnian kultur bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c dari *glycerol stock* ke TSA dan TSB
6. Subkultur bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c ke TSB dan TSA *slant*

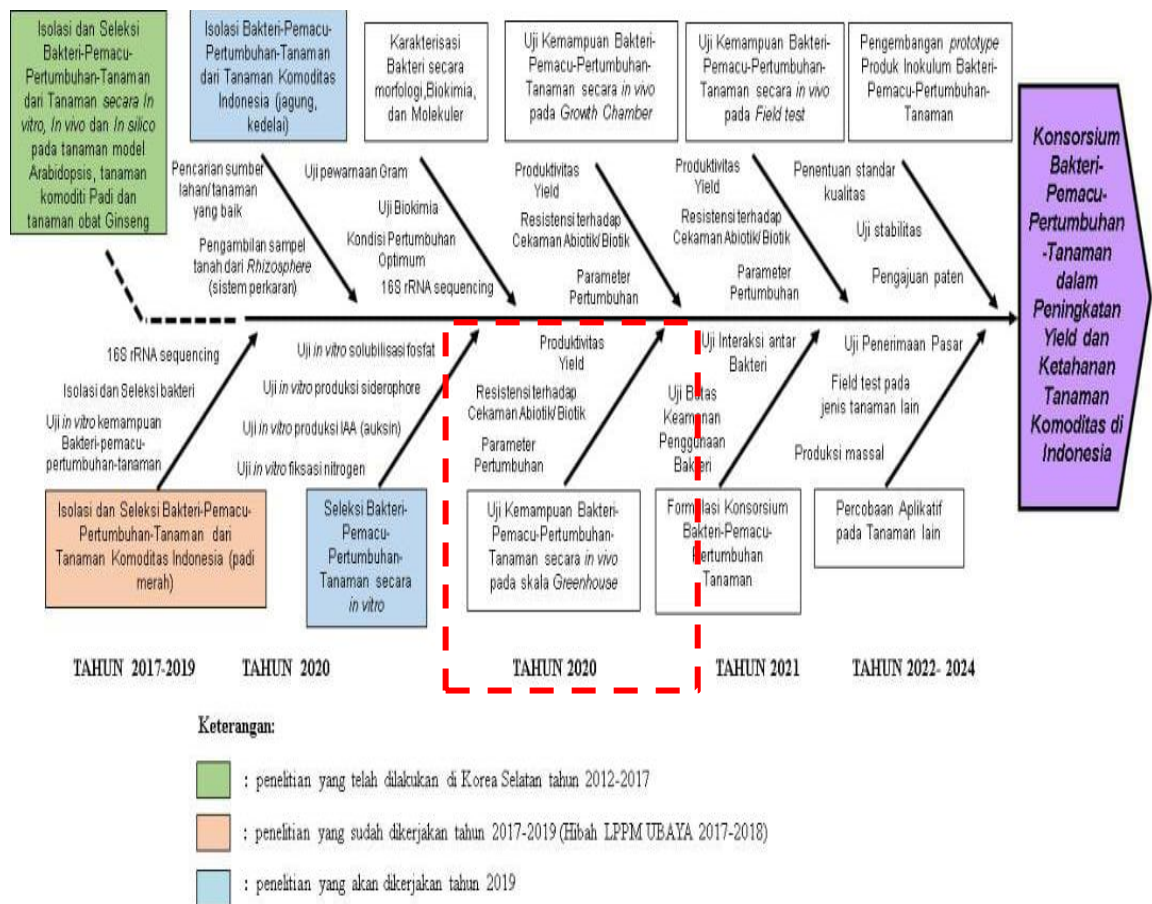


7. Pembuatan dosis bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c serta konsorsium (G3 + G4C) sebelum ditreatmenkan pada tanaman
8. Germinasi dan seleksi bibit padi var. Ciherang
9. Konsultasi komposisi dan sterilisasi media tanam
10. Treatment kultur bakteri ke padi fase vegetatif (umur ke-10 hari) dengan 4 perlakuan yaitu: Kontrol negatif (media TSB), bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3, bakteri *Rhizobium pusense* G4c, dan konsorsium (G3 + G4)
11. Pengukuran parameter pertumbuhan padi yaitu panjang aerial part, panjang akar, berat segar total, berat segar akar, berat kering akar dan berat kering aerial part.
12. Skrining in vitro (produksi IAA, siderofor dan pelarut fosfat)

### **3.2. Profil Proyek Penelitian Pengembangan Konsorsium Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman Sebagai Pupuk Hayati**

Penelitian Proyek Pengembangan Profesi dilakukan dalam suatu rangkaian penelitian dari Bapak Johan Sukweenadhi, Ph.D. yang merupakan salah satu Dosen di fakultas teknobiologi di bidang *Plant Metabolites Engineering*. Penelitian beliau berkaitan dengan peran *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang diisolasi dari rizorfer tanaman seperti tanaman komoditas padi dan tanaman obat ginseng yang dapat menstimulasi perkembangan, pertumbuhan hingga produktivitas tanaman komoditas pangan di Indonesia. Penelitian ini telah dilakukan dari tahun 2012 - 2017 di Korea Selatan yang kemudian dilanjutkan di Indonesia pada tahun 2017-2019, dengan target pada tahun 2024 tujuan dari penelitian ini dapat tercapai untuk merealisasikan adanya inovasi pengembangan rhizobakteri yang memberikan pengaruh yang baik dalam menunjang sektor pertanian serta mendukung upaya restorasi lingkungan khususnya pada lahan-lahan pertanian yang tercemar berbagai senyawa kimia berbahaya akibat penggunaan pupuk kimia yang berlebihan serta pencemaran

lingkungan. Penelitian ini ingin menggali kemampuan berbagai bakteri yang tumbuh di area perakaran yang berpotensi sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) untuk kemudian dioptimalisasikan dalam suatu produk inokulum berupa formulasi konsorsium bakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang dapat diaplikasikan sebagai pupuk hayati pada berbagai tanaman khususnya tanaman komoditas di Indonesia dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitasnya walaupun dalam suatu lahan pertanian dengan berbagai stres didalamnya baik cekaman abiotic maupun biotik.



**Gambar 1. Roadmap Penelitian Pupuk Hayati**

Setelah melakukan beberapa pengujian PGPR di Korea Selatan, pada tahun 2019 penelitian dilanjutkan kembali untuk menemukan kandidat-

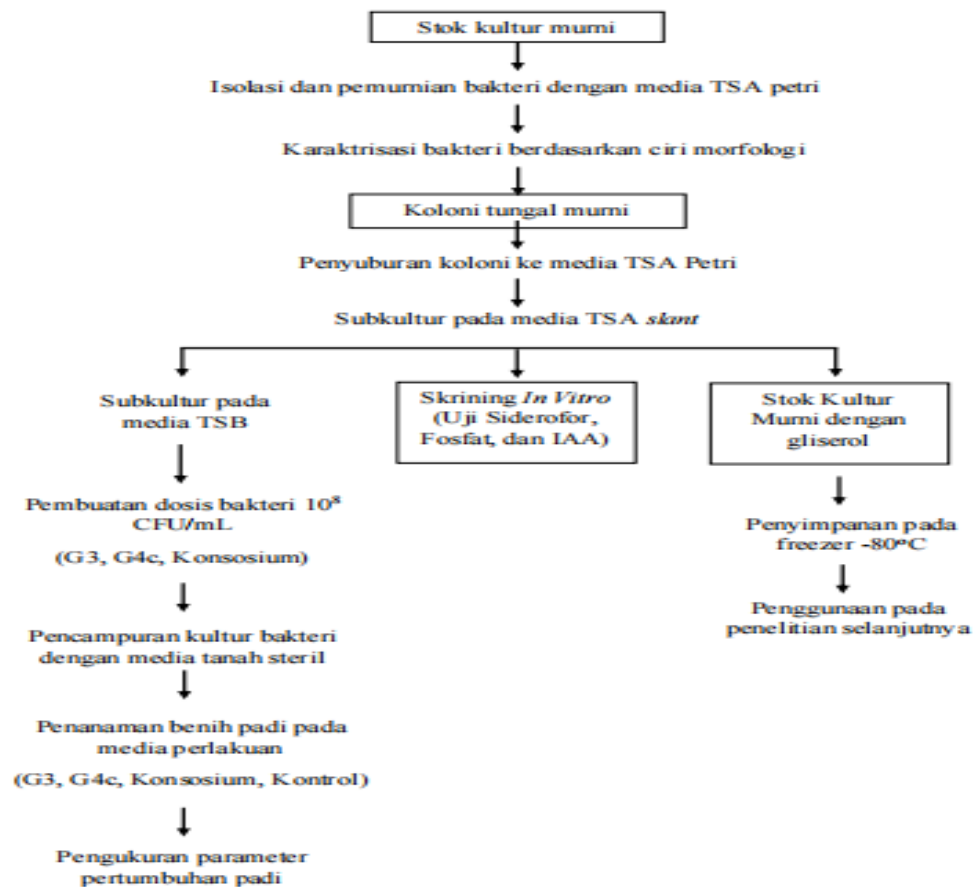
kandidat bakteri perakaran dari tanaman komoditas Indonesia seperti padi yang berpotensi sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang dapat memacu pertumbuhan dan produktifitas tanaman serta meningkatkan kembali kualitas lahan pertanian yang menurun akibat cekaman biotik maupun abiotik. Pada penelitian ini dilakukan isolasi serta uji skrining in vitro PGPR dari padi merah Var. Barak Cenana. Dari hasil isolasi dan pemurnian diperoleh 10 isolat tunggal murni dengan koding G1, G2, G3, G3a, Isolat G3b, G3c, G4c, G4ap, G4aa, dan G4bp. Sedangkan untuk mengetahui kemampuan isolate sebagai PGPR dilakukan skrining in vitro dalam memproduksi hormone IAA, siderofor serta kelarutan forsfat. Hasil menunjukkan, semua isolate menunjukkan hasil positif terhadap uji produksi siderofor sedangkan dalma pengujian IAA isolate G4c memiliki kemampuan untuk menghasilkan IAA paling tinggi dan stabil sedangkan isolate G3b dan G4ap memiliki kemampuan paling rendah dibandingkan isolate G4c. Selain G4c, isolate G3 menunjukkan kemampuan produksi hormone IAA terbaik pada hari ke 4 dan 5 namun tdak brbeda nyata dengan isolate G4c. Sehingga dapat disimpulkan isolate G3 dan G4c berpotensi sebagai agen peningkat pertumbuhan tanaman.

Pada uji kelarutan fosfat isolate G1 dan G3 tidak memiliki kemampuan melarutkan fosfat, sedangkan isolat lain memiliki kemampuan melarutkan fosfat. Sehingga dapat disimpulkan isolate G4c yang diperkirakan memiliki potensi besar sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman berdasarkan hasil pengujian kemampuan isolat yang selalu konsisten menghasilkan konsentrasi IAA yang tinggi, menghasilkan siderofor dan melarutkan fosfat. Selanjutnya dilakukan identifikasi hingga taraf molekuler dengan sekuensing 16S rRNA dimana berdasarkan hasil BlastN di NCBI, isolat G1 memiliki karakteristik mirip dengan isolat G2, G3a dan G3 yang memiliki tingkat kemiripan dengan *Beijerinckia fluminensis* galur UQM 1685 sebesar 96%, 98%, 98%, dan 99%. Berdasarkan pengurutan 16S rRNA dengan menggunakan set primer 785F

dan 907R, Isolat G4c diidentifikasi sebagai *Rhizobium pusense* (Sukweenandhi et al. 2019).

### **3.3. Metode Pencapaian**

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian sebelumnya, kandidat PGPR yang berpotensi dikembangkan menjadi produk inokulum bakteri yang dapat memacu pertumbuhan dan produktifitas tanaman serta meningkatkan kualitas lahan pertanian di Indonesia adalah isolate *Rhizobium pusense* G4c dengan kemampuannya yang dapat menghasilkan hormone IAA pada konsentrasi tertinggi, menghasilkan siderofor serta dapat melarutkan fosfat serta isolate *Beijerinckia fluminensis* G3 yang juga menghasilkan IAA dalam konsentrasi tinggi serta dapat menghasilkan siderofor. Sehingga penelitian proyek pengembangan profesi ini dirancang untuk menguji kemampuan kedua bakteri tersebut secara *in vivo* pada skala *greenhouse* (kotak garis-garis merah pada gambar 1). Adapun skema kerja penelitian dari penelitian proyek P3 yang dilakukan sebagai berikut:



**Gambar 2.** Skema Kerja Penelitian P3

Proyek P3 ini difokuskan untuk mencari tau pengaruh serta kemampuan bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c yang berpotensi sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) terhadap pertumbuhan padi var. Ciherang pada fase vegetatif melalui beberapa perlakuan dan pengukuran parameter pertumbuhan serta uji skrining in vitro untuk mengetahui kemampuan bakteri tersebut dalam menghasilkan IAA, memproduksi siderofor dan melarutkan fosfat. Sehingga, diharapkan hasil dari penelitian proyek P3 ini dapat memberikan data serta informasi untuk menunjang proyek penelitian Pak Johan tentang inovasi pupuk hayati melalui penelitian Konsorsium Bakteri-Pemacu-Pertumbuhan-Tanaman Dalam Peningkatan Yield Dan Ketahanan Tanaman Komiditas di Indonesia.

Adapun alat dan bahan serta langkah kerja yang dilakukan dalam melakukan penelitian P3 ini, ebagai berikut:

### **3.3.1. Alat**

Alat yang akan digunakan pada penelitian ini antara lain peralatan gelas beaker (Pyrex), tabung reaksi (Pyrex), tabung ulir (Pyrex), cawan Petri (Anumbra), timbangan analitik (OHAUS), mikropipet 10-100  $\mu$ L (BioRad), mikropipet 100-1000  $\mu$ L (Gilson), gelas ukur (Iwaki), pipet ukur, pipet tetes, rak tabung reksi, erlenmeyer, penggaris (Butterfly), spektrofotometer (genesys 105 Uv-Vis), oven (memmert & binder), mikroskop (OptiLab & Olympus), Laminar Air Flow (LAF), vortex (Faithfull), autoklaf (Hirayama), hotplate stirrer (Thermo), microcentrifuge (Thermo), shaker incubator (Innova 40 & Finder), ose bulat, kaca pengaduk, gunting, botol kultur, tip 10-100  $\mu$ L, tip 100-1000  $\mu$ L, botol coklat, jarum steril, parafilm, microtube 1,5 mL, waterbath, Magnetic bar, lemari asam, pingset, bunsen, rak ependorf, Glycerol stock tube, botol schott, kuvet, tabung falcon, filler, sendok, pot bunga

### **3.3.2. Bahan**

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain Kultur murni bakteri G3 dan G4c, tip 10-100  $\mu$ L (*GenFollower*), HCl pekat (*Merck*),  $\text{FeCl}_3$  (*Merck*), *Indole Acetic Acid* (*Merck*), *Tryptic Soy Agar* (*Merck*), *Potato dextrose agar*, *Tryptic Soy Broth* (*Merck*), glycerol 100%, KOH (*Merck*), spiritus, alkohol 96%, akuades, kertas koran, kapas dan tisu, alumunium foil, benih padi Var. Ciherang, agar bakteriologikal, bubuk Pikovskaya Agar, media King B agar, CAS, HDTMA, tanah kompos, campuran tanah.

### **3.3.3. Metode Kerja**

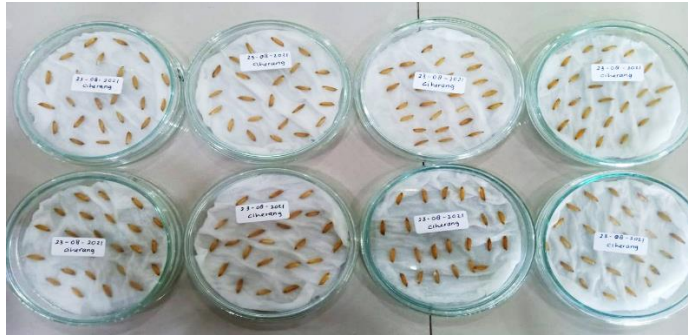
Metode kerja yang dilakukan pada penelitian ini yaitu memilih dan menseleksi benih padi, persiapan dan germinasi benih padi, pembuatan media TSB, TSA, King's B modifikasi, pikovskaya ½ kuat, dan reagen Salkowski, pemurnian dan peremajaan isolate G3 dan G4c, pemilihan bibit padi dengan ciri serupa, pembuatan media tanah *artificial*, pembuatan dosis bakteri G3 dan G4c, penginfeksian isolate G3, G4c, dan konsorsium dengan kepadatan  $10^8$  CFU/ml pada bibit padi, pemeliharaan bibit dan perhitungan parameter pertumbuhan, dan pengujian *skining in vitro* isolat bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3, bakteri *Rhizobium pusense* G4c.

### **3.3.4. Pemilihan Benih Padi**

Jenis padi yang dipilih adalah padi Var. Ciherang yang memiliki umur berkisar 116-125 hari serta memiliki sifat lebih resisten terhadap penyakit hawar daun bakteri dan produktivitasnya yang tinggi (Arnama, 2020). Biji padi terlebih dahulu diseleksi dengan merendamnya dalam air selama semalaman. Benih dengan kualitas yang kurang baik akan mengapung sehingga dibuang, sedangkan benih yang tenggelam menunjukkan kualitas benih yang baik. Proses perendaman ini bertujuan untuk mempercepat proses perkecambahan penih padi sehingga waktu germinasi relatif lebih singkat.

### **3.3.5. Germinasi Benih Padi**

Benih padi yang telah diseleksi kemudian digerminasi di dalam petridish pada media tisu yang dibasahi dengan air secukupnya kemudian. Kemudian diinkubasi pada ruang gelap selama 7 hari. Pada hari ke-6 dan ke-7 benih diletakan pada tempat yang terang selama 5-7 jam untuk mendapatkan cahaya sinar matahari secara tidak langsung yang bertujuan untuk menumbuhkan tunas yang berwarna hijau segar serta memiliki batang yang lebih kokoh.



**Gambar 3.** Proses germinasi bening padi Var. Cigerang hari pertama

### 3.3.6. Pembuatan Media

Dalam penelitian ini menggunakan beberapa jenis media yaitu media agar dan cair berupa media TSA slant dan petri, media TSB untuk proses pemurnian, subkultur serta uji skrining in vitro serta media Kings's B Agar modifikasi, dan media pikovskaya agar  $\frac{1}{2}$  kuat sebagai media uji skrining in vitro. Berikut merupakan proses pembuatan media pertumbuhan bakteri:

#### a. Media *Tryptic Soy Agar* (TSA)

Media *Tryptic Soy Agar* (TSA) digunakan sebagai media penyubur isolat murni yang telah diperoleh. Sebanyak 4 g media TSA ditambahkan akuades sebanyak 100 mL dan diaduk hingga larut dengan sempurna. Kemudian dilakukan pemanasan pada *magnetic stirrer* hingga larutan media menjadi bening dan dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit. Selanjutnya, dilakukan pencetakan media pada petridish dan tabung ulir (slant) di dalam LAF. Media TSA yang dibutuhkan sebanyak 1,5 L.

#### b. Media *Tryptic Soy Broth* (TSB)

Media *Tryptic Soy Broth* (TSB) digunakan sebagai media penyubur isolat untuk digunakan dalam uji skrining in vitro, pemurnian serta subkultur bakteri G3 dan G4c. Pembuatan



media dilakukan dengan melarutkan 3 g media TSB yang ditambahkan akuades sebanyak 100 mL ke dalam botol bening, erlenmeyer dan tabung ulir. Kemudian dilakukan sterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit.

**c. Media King's B Modifikasi**

Sebanyak 23,338 gram media King B agar dan 9 mL gliserol 1,5% dicampurkan ke dalam 540 mL akuades. Dilakukan penambahan 36,3 mg CAS (yang dilarutkan dalam 30 mL akuades), 43,74 mg HDTMA (yang dilarutkan dalam 24 mL akuades) dan 6 mL FeCl<sub>3</sub> 1mM (dilarutkan dalam HCl 10 mM) secara berurutan, kemudian dilakukan pemanasan hingga media jernih, kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit (Sukweenadhi *et al.*, 2014).

**d. Media Pikovskaya ½ Kuat**

Media Pikovskaya yang dibuat merupakan media dengan konsentrasi ½ kali kuat. Media ini dibuat dengan mencampurkan 7,0425 gram bubuk Pikovskaya Agar dengan 7,0425 gram agar bakteriologikal kedalam 450 mL akuades. Media dipanaskan hingga larut (warna jernih), setelah itu dilakukan sterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.



(a)

(b)

(c)

**Gambar 4.** Proses pembuatan media (a) TSA dan TSB, (b) Pikovskaya agar, dan (c) King B modifikasi

### 3.3.7. Pemurnian dan Peremajaan Isolate G3 dan G4c

Tahap pemurnian penting dilakukan untuk memastikan isolat bakteri yang digunakan tidak terkontaminasi dan merupakan isolat murni dengan ciri morfologi yang khas dimiliki oleh bakteri G3 dan G4c. Tahap pemurnian juga dilakukan untuk mengaktifkan kembali isolate bakteri sehingga dapat disubkulturkan dan digunakan untuk proses selanjutnya. Tahap awal pemurnian dilakukan dengan mengaktifkan kembali isolate bakteri dari *glycesol stock* dengan menginokulasikan 1 ose isolate bakteri G3 dan G4c pada media TSB di tabung ulir. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 31°C selama 24 jam di dalam *shaker incubator*.

Setelah 24 jam, media akan terlihat keruh yang menandakan isolate bakteri telah aktif. Kemudian dilakukan pemurnian isolate bakteri G3 dan G4c dengan menginokulasikan 1 ose isolat yang telah diaktifkan pada media TSA plate dengan metode *streak quadrant* untuk memperoleh koloni tunggal. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 31°C selama 24 jam. Koloni bakteri tunggal yang tumbuh kemudian dikonfirmasi dengan mengamati dan membandingkan morfologinya dengan morfologi bakteri G3 dan G4c. Setelah dipastikan memiliki ciri morfologi yang sama, dibuat *stock* kultur murni bakteri G3 dan G4c dengan gliserol dan dilakukan subkultur bakteri pada media TSA slant dan TSB untuk kemudian dilakukan uji skrining *in vitro* serta pembuatan dosis bakteri yang akan diinokulasikan pada benih padi.



**Gambar 5.** Proses aktifasi dan pemurnian isolate G3 dan G4c

### **3.3.8. Pembuatan Media Tanah *Artificial***

Media pertumbuhan benih padi menggunakan media tanah steril yang terdiri dari campuran tanah dan kompos dengan perbandingan 1:1. Sterilisasi media tanah ini bertujuan untuk menciptakan media pertumbuhan yang steril tanpa adanya pertumbuhan bakteri lain sehingga media tanah hanya didominasi oleh isolate bakteri G3 dan G4c. Setelah mencampur tanah tersebut, tanah dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 20 menit

### **3.3.9. Pembuatan Dosis Isolate G3 dan G4c**

Pada penelitian ini akan diinokulasikan isolate bakteri G3 dan G4c dengan kepadatan populasi  $10^8$  CFU/ml dimana menurut penelitian yang dilakukan oleh Sutanto (2021) pada kepadatan populasi ini, maka kedua bakteri ini efektif dalam membantu pertumbuhan padi var. Ciherang terutama pada panjang akar, lebar akar, berat akar, luas permukaan akar padi, luas permukaan akar dan volume akar. Sebanyak 1 ose isolate murni G3 dan G4c diinokulasikan ke dalam media TSB dan dilakukan inkubasi pada *shaker incubator* dengan suhu 31°C pada kecepatan 100 rpm selama 4 hari hingga mencapai kepadatan populasi  $10^8$  yang dibuktikan dengan perhitungan Angka Lempeng Total (ALT). Dilakukan pengecekan nilai absorbansi dan perhitungan ALT hingga

pengenceran  $10^8$  setiap harinya untuk mengecek peningkatan pertumbuhan bakteri serta mengontrol kemurniannya. Jika nilai absorbansi mencapai angka 1 menunjukkan kepadatan populasi bakteri sudah cukup baik untuk ditreatmentkan pada tanaman.

Nilai absorbansi 1 - 1,6 Å pada isolat G3 serta nilai 1 - 2,2 Å pada isolat G4c menunjukkan jumlah pertumbuhan bakteri dengan kepadatan  $10^8$  pada perhitungan ALT (Susanto, 2021). Ketika telah mendapatkan nilai absorbansi yang tepat dengan hasil perhitungan ALT yang telah menunjukkan kepadatan populasi  $10^8$  pada kultur bakteri G3 dan G4c, dilakukan peracikan konsorsium dengan mencampurkan kultur bakteri G3 dan G4c (1:1) secara aseptis. Kultur konsorsium yang telah dibuat harus segera ditreatmentkan ke tanaman untuk mneghindari adanya kontaminasi.



**Gambar 6.** Proses pembuatan dosis bakteri G3, G4c, dan konsorsium

### **3.3.10. Inokulasi isolate G3, G4c, dan Konsorsium pada Benih Padi Var.**

#### **Ciherang**

Tahap perlakuan diawali dengan menseleksi benih padi berumur 7 hari dengan memiliki benih-benih unggul yang memiliki ciri serupa yaitu berwarna hijau muda segar, tunas dan akar serabut kokoh, jumlah daun 1, tinggi tumbuhan berkisar 2-5 cm, serta kondisi benih dalam keadaan sehat tanpa adanya jamur. Dipilih 198 benih padi unggul

yang dibagi menjadi 4 perlakuan dimana masing-masing perlakuan terdiri dari 48 benih padi. Kemudian dilakukan persiapan media tanah *artificial* pada setiap pot, setiap perlakuan terdiri dari 16 pot yang berisi 100 gram tanah *artificial*. Kemudian dilakukan penanaman benih padi Var. Ciherang, dimana 1 pot berikan 3 benih padi yang telah dilabeli. Setelah itu dilakukan inokulasi kultur *Beijerinckia sp. G3*, *Rhizobium pusense G4C*, Konsorsium (G3 + G4c) dengan kepadatan populasi bakteri  $10^8$  CFU/mL serta kontrol (-) berupa media TSB pada media tanam dengan cara menyiram 100 mL kultur pada setiap pot yang berisi 100 gram tanah secara merata.



**Gambar 7.** Kondisi padi hari ke-0 setelah inokulasi isolate bakteri

### **3.3.11. Pemeliharaan bibit Padi dan Perhitungan Parameter Pertumbuhan**

Pemeliharaan bibit padi setelah perlakuan dilakukan di *greenhouse* sehingga terdapat faktor pembatas berupa beberapa faktor lingkungan yang tidak terkontrol. Dalam penelitian, kelembapan media tanah merupakan salah satu faktor yang harus diperhatikan, untuk itu ketika genangan air pada wadah pot disetiap perlakuan mulai mengering, perlu ditambahkan air dalam jumlah yang cukup. Pengukuran parameter pertumbuhan seperti panjang *aerial part*, panjang akar, berat segar total, berat segar akar, berat kering akar dan

berat kering *aerial part* dilakukan pada hari terakhir setelah treatment yaitu 46 hari setelah perlakuan (HSP). Adapun metode yang dilakukan dalam mengukur parameter pertumbuhan sebagai berikut:

#### **3.3.12. Pengukuran Panjang *Aerial Part***

Pengukuran panjang *aerial part* dilakukan dengan menggunakan penggaris kemudian diukur tinggi tanaman dari pangkal batang terbawah (perbatasan akar dan batang) hingga ujung daun tertinggi.

#### **3.3.13. Pengukuran Panjang Akar**

Pengukuran panjang akar dilakukan dengan mencabut tanaman padi dari media tanah dengan perlahan untuk mencegah kerusakan bagian akar. Kemudian bagian akar dipisahkan dari bagian batangnya dengan cara dipotong dan dibersihkan. Panjang akar diukur menggunakan penggaris yang sama mulai dari pangka akar hingga ujung akar terpanjang.

#### **3.3.14. Perhitungan Berat Segar Total**

Pengukuran berat segar total dilakukan dengan mencabut tanaman padi secara perlahan untuk mempertahankan setiap bagian tanaman padi secara utuh. Kemudian dilakukan pencucian tanaman padi dari berbagai pengotor seperti tanah. Kemudian seluruh bagian padi mulai dari akar hingga *aerial part* ditimbang menggunakan timbangan analitik.

#### **3.3.15. Perhitungan Berat Segar Akar**

Pengukuran berat segar akar dilakukan dengan menimbang seluruh bagian akar yang telah dipisahkan dari *aerial part* serta dalam kondisi bersih pada timbangan analitik

### 3.3.16. Perhitungan Berat Kering Akar

Akar yang telah dipisahkan dari *aerial part* serta dalam kondisi bersih dikeringkan dengan cara dimasukan ke dalam oven dalam suhu 105°C selama 24 jam. Setelah itu, akar yang telah kering sempurna ditimbang berta keringnya menggunakan timbangan analitik.

### 3.3.17. Perhitungan Berat Kering Aerial Part

*Aerial part* yang telah dipisahkan dari akar serta dalam kondisi bersih dikeringkan dengan cara dimasukan ke dalam oven dalam suhu 105°C selama 24 jam. Setelah itu, *Aerial part* yang telah kering sempurna ditimbang berta keringnya menggunakan timbangan analitik.



**Gambar 8.** Proses pengukuran parameter pertumbuhan padi

### 3.3.18. Uji Skinning *in vitro* isolat G3 dan G4c

Skrining *in vitro* dilakukan dengan tujuan untuk menguji kemampuan memacu pertumbuhan tanaman dari isolat murni G3 dan G4c. Terdapat 3 macam skrining *in vitro* yang dilakukan yaitu, uji produksi IAA, uji produksi siderofor, dan uji pelarutan fosfat.

#### a. Pengujian Hormon *Indole Acetic Acid* (IAA)

Pengujian produksi *Indole Acetic Acid* (IAA) dilakukan untuk mengetahui kemampuan isolat memproduksi IAA. Isolat murni sebanyak 1 ose penuh ditumbuhkan pada media *Tryptic*

*Soy Broth* (TSB), diinkubasi selama 24 jam menggunakan *shaker incubator* dengan kecepatan 100 rpm, pada suhu 31°C. Sebanyak 1 mL isolat disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Pengukuran konsentrasi IAA dilakukan dengan mereaksikan 0,5 mL supernatan isolat dan 1 mL reagen salkowski pada ruangan gelap selama 1 jam, diamati menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Kuantitas dari IAA ditentukan dengan membandingkan hasil yang didapat dengan kurva standar yang dibuat menggunakan larutan standar IAA dengan berbagai konsentrasi 10 - 100 ppm

**b. Pembuatan Reagen Salkowski**

Sebanyak 1,2 g FeCl<sub>3</sub> dilarutkan secara perlahan dalam 50 mL 7,9 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> di dalam lemari asam. Larutan dibuat saat akan digunakan dan disimpan dalam botol coklat untuk menghindari kerusakan

**c. Uji Produksi Siderofor**

Uji produksi siderofor dilakukan dengan menggunakan media King B Modifikasi. Uji ini dilakukan dengan menginokulasikan kultur bakteri ke media TSB, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 1-2, kemudian dicek ODnya. Apabila OD yang didapat berkisar antara 0,3-0,9 maka kultur dipekatkan 10x dan apabila OD diatas 1, maka kultur dipekatkan 5x. Kultur hasil pemekatan kemudian diambil sebanyak 10 µL, kemudian distreak pada media King B modifikasi dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 31°C. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya zona oranye disekitar koloni bakteri.



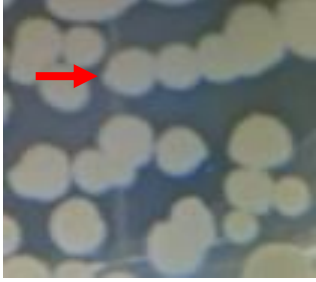

#### **d. Uji Pelarutan Fosfat**

Uji Pelarutan Fosfat dilakukan dengan menginokulasikan kultur bakteri ke media TSB, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 1-2, kemudian dicek ODnya. Apabila OD yang didapat berkisar antara 0,3-0,9 maka kultur dipekatkan 10x dan apabila OD diatas 1, maka kultur dipekatkan 5x. Kultur hasil pemekatan kemudian diambil sebanyak 10 µL, kemudian distreak pada media Pikovskaya ½ kuat dan diinkubasi selama 2-3 hari pada suhu 31°C. Hasil yang positif ditandai dengan keberadaan zona bening disekitar koloni bakteri (Husen, 2016).

### **3.4. Hasil dan Pembahasan**

#### **3.4.1. Pemurnian Koloni Tunggal Isolat *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c**

Pemurnian koloni tunggal merupakan langkah yang sangat penting dalam melakukan penelitian terkait menguji kemampuan bakteri, hal ini bertujuan untuk memastikan bahwa koloni bakteri yang berhasil diisolasi dan akan digunakan nantinya tidak terkontaminasi oleh bakteri lainnya sehingga. Dalam penelitian kali ini dilakukan pemurnian bakteri G3 dan G4c dari stok gliserol murni yang diperoleh dari penelitian sebelumnya oleh Susanto (2021) yang ditumbuhkan pada pada media TSA sehingga diperoleh hasil pemurnian seperti pada tabel 3.1.

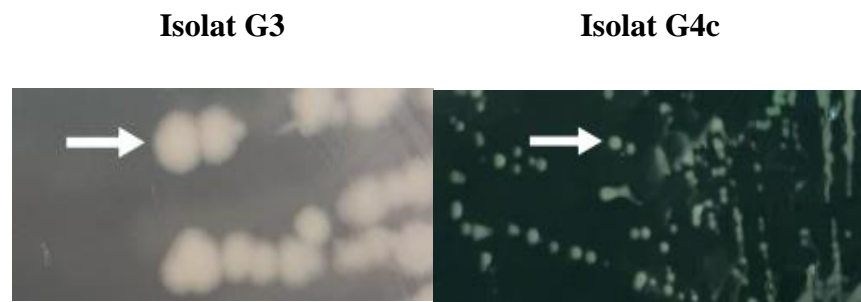
Isolat G3	Isolat G4c
	
<p>Koloni kecil, putih, cembung, bulat, tepian rata</p>	<p>Ciri morfologi koloni putih, bulat, cembung, tepian rata</p>

**Tabel 2.** Hasil pemurnian koloni tunggal isolat G3 dan G4c

Berdasarkan ciri morfologi yang didapat isolat G3 memiliki kemiripan morfologi dengan *Beijerinckia fluminensis* dan isolat G4c memiliki kemiripan morfologi dengan *Rhizobium pusense*. Dapat dilihat bahwa ciri morfologi koloni bakteri G3 dan G4c yang tumbuh pada media TSA memiliki karakteristik yang sama dengan hasil inokulasi koloni tunggal yang dilakukan oleh Sukweenadhi (2019) dan Sutanto (2021), dimana hasil serupa pada G3 yang berbentuk koloni kecil berwarna putih, bulat, cembung, memiliki pinggiran yang rata, serta berukuran lebih besar disbanding isolate G4c, sedangkan pada G4c tumbuh koloni berwarna putih, bulat, cembung, dan memiliki pinggiran yang rata serta ukuran yang lebih kecil dibandingkan dengan G3 sehingga dapat dikatakan bahwa koloni yang tumbuh pada meda TSA benar-benar adalah bakteri G3 dan G4c.



**Gambar 9.** Hasil inokulasi bakteri G3 dan G4c pada medim Nfb (Sukweenadhi, 2019)



**Gambar 10.** Hasil inokulasi bakteri G3 dan G4c pada medium TSA (Susanto, 2021)

### 3.4.2. Uji Skrining *In vitro* Isolat *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c

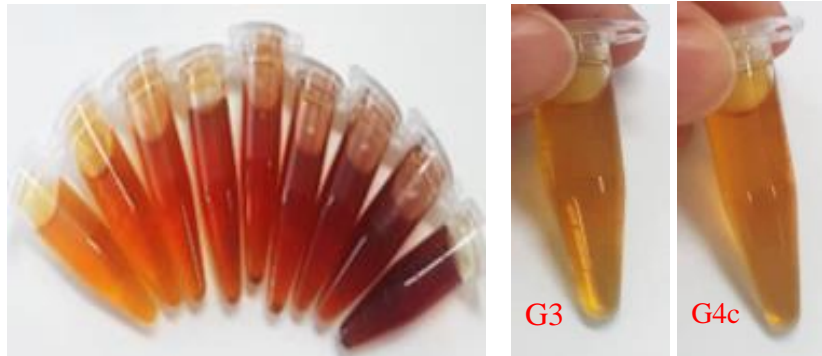
Uji Skrining *in vitro* dilakukan untuk menguji potensi dari bakteri G3 dan G4c berdasarkan ada tidaknya kemampuan yang dimiliki bakteri pemacu pertumbuhan tanaman dalam menghasilkan fitohormon yang berfungsi dalam peningkatan asupan nutrisi, dan meningkatkan sistem pertahanan tanaman dalam lingkungan yang terkendali. Dalam penelitian ini, skrining *in vitro* yang dilakukan adalah uji produksi *indole-3-acetic acid* (IAA) sebagai representasi untuk melihat kemampuan isolate dalam menghasilkan fitohormon tipe auksin, uji kelarutan forfat sebagai representasi untuk melihat kemampuan isolat dalam meningkatkan asupan hara tanaman serta uji

produksi siderofor sebagai parameter yang merepresentatifkan kemampuan isolat dalam meningkatkan sistem pertahanan tanaman.

**a. Uji Produksi IAA Bakteri G3 dan G4c**

Prinsip pengujian IAA yaitu prinsip kolorimetri dengan menggunakan reagen Salkowski yang terdiri dari  $\text{H}_2\text{SO}_4$  7,9 M dan  $\text{FeCl}_3$ . Dalam pengujiannya, apabila suatu bakteri memiliki kemampuan untuk memetabolisme triptofan menjadi IAA atau senyawa analog dari IAA, maka akan terbentuk kompleks tris-(indole-3-acetato)iron(III) yang ditandai dengan munculnya warna merah muda setelah bereaksi dengan unsur Fe dalam reagen Salkowski yang diinkubasi dalam ruang gelap untuk mencegah senyawa Fe tersebut teroksidasi oleh adanya cahaya (Rahman et al., 2010).

Hasil pengujian yang diperoleh adalah pada isolate G3 dan G4c menunjukkan hasil positif dimana terjadi perubahan warna menjadi coklat kemerahan seperti pada konsentrasi larutan standar (gambar 11.). Indikasi hasil positif ditandai dengan perubahan warna menjadi merah muda hingga keunguan namun pada penelitian ini diperoleh perubahan warna menjadi coklat kekuningan hingga merah bata. Hal ini diduga disebabkan oleh perbedaan komposisi dari reagen Salkowski yang digunakan, dimana pada penelitian ini digunakan larutan asam berupa HCL 7,9 M yang seharusnya menggunakan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  7,9 M sehingga mempengaruhi reaksi kalorimetri yang terjadi.



(A)

(B)

**Gambar 11.** Perbedaan warna positif pada larutan standar IAA (A) serta isolate G3 dan G4c (B) setelah ditetesi reagen Salkowski dan diinkubasi pada ruang gelap.

Berdasarkan hasil perubahan warna yang terjadi pada larutan standar IAA, dapat disimpulkan bahwa semakin pekat warna yang dihasilkan semakin tinggi konsentrasi IAA didalamnya begitu pula sebaliknya. Pada sampel isolat G4c menunjukkan perubahan warna yang lebih pekat dibandingkan hasil pada isolate G3 hal ini dibuktikan dengan hasil nilai absorbansi yang diukur juga menunjukkan nilai yang lebih tinggi pada isolate G4c yaitu 1,166 dibandingkan pada isolate G3 yaitu 0,992 (table 2). Berdasarkan persamaan regresi yang diperoleh, konsentrasi IAA isolate G4c menunjukkan hasil yang lebih tinggi dibandingkan isolate G3 yaitu 1,19 ppm. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Sukweenadhi (2019) yang menunjukkan pada hari pertama hingga hari ketiga, Isolat G4c memiliki kemampuan produksi auksin yang paling baik dengan perbedaan yang signifikan dalam produksi auksin dibandingkan dengan isolat lainnya, sedangkan isolat G3 memiliki kemampuan produksi yang paling baik IAA pada hari ke-4 dan ke- 5. Sehingga, berdasarkan hasil tersebut, isolate G4c

berpotensi memberikan pengaruh yang lebih baik terhadap pertumbuhan dan perpanjangan akar sehingga permukaan akar menjadi lebih luas sehingga tanaman mampu menyerap nutrisi dari dalam tanah lebih banyak (Kumala dkk., 2007) dibandingkan pengaruh isolate G3.

<i>Isolat</i>	<i>Nilai Absorbansi</i>	<i>Konsentrasi IAA</i>
<i>G3</i>	0,992	3,129 ppm
<i>G4c</i>	1,166	4,19 ppm

**Tabel 3.** Hasil nilai absorbansi dan konsentrasi IAA isolat G3 dan G4c

**b. Uji Peroduksi Siderofor Bakteri G3 dan G4c**

Pada penelitian ini, uji produksi siderofor dilakukan secara kualitatif, yaitu dengan mengamati pertumbuhan koloni bakteri berwarna kuning (oranye) yang sangat kontras dengan warna biru kehijauan pada media, semakin pekat perubahan warna menunjukkan semakin kuat kemampuan bakteri memproduksi siderofor begitu juga sebaliknya (Louden et al., 2011). Uji produksi siderofor dilakukan menggunakan media King B modifikasi yang merupakan media miskin unsur Fe yaitu media King B yang ditambahkan CAS, HDTMA serta FeCl<sub>3</sub> (Sukweenadhi et al., 2014). Kompleks CAS-HDTMA dengan logam Fe akan menimbulkan warna biru kehijauan pada media. Dalam hal ini logam Fe, CAS dan HDTMA berperan penting sebagai indikator untuk mendeteksi siderofor, dimana ketika bakteri mensekresi siderofor (ion pengkelat spesifik) untuk melepaskan dan mengikat kompleks CAS-HDTMA dengan logam Fe tersebut sehingga menyebabkan perubahan

warna media dari biru menjadi oranye yang menandakan hasil positif (Louden et al., 2011).

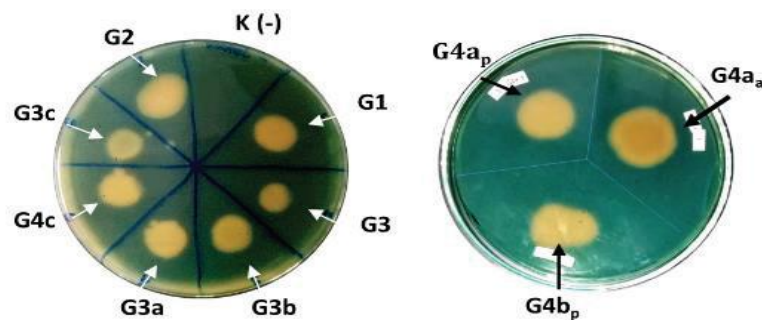


**Gambar 12.** Hasil uji produksi siderofor. (a) isolat G3 dan (b) isolat G4c yang menunjukkan hasil negatif

Berdasarkan uji siderofor yang dilakukan menunjukkan hasil negatif dimana tidak ada pertumbuhan bakteri yang memberikan perubahan warna oranye pada media baik pada isolate G3 maupun isolate G4c (gambar 12). Perubahan warna biru kehijauan menjadi oranye pada media diduga bukan disebabkan oleh aktifitas bakteri dalam memproduksi fosfat namun disebabkan oleh rusaknya media King B agar yang digunakan sehingga mempengaruhi kompleks CAS-HDTMA dengan logam Fe pada media. Kerusakan media ini dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti, masa inkubasi yang terlalu lama ataupun faktor lingkungan lainnya yang menyebabkan unsur Fe pada kompleks tersebut terlepas sehingga medium yang berwarna biru akan berubah warna menjadi oranye tanpa adanya senyawa siderofor yang dihasilkan oleh bakteri.

Hasil ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Sukweenadhi (2019) yang menunjukkan kemampuan bakteri G3 dan G4c dalam memproduksi siderofor dimana terdapat zona dengan koloni bakteri berwarna oranye pada media (gambar 13). Hasil tersebut menunjukkan bahwa bakteri G3 dan G4

merupakan bakteri penghasil siderofor. Tidak adanya pertumbuhan bakteri G3 dan G4 pada penelitian ini dapat disebabkan oleh rendahnya kepadatan populasi bakteri sehingga produksi siderofor untuk mengikat unsur Fe dari kompleks CAS-HDTMA dengan logam Fe pada media tidak efektif sehingga tidak terlihat adanya zona pertumbuhan bakteri G3 dan G4c berwarna oranye pada medium.



Gambar 13.

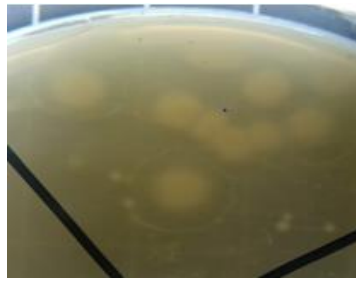
**Gambar 13.** Hasil uji produksi siderofor menunjukkan hasil positif, zona dengan kultur bakteri berubah menjadi oranye.

K (-) adalah kontrol negatif. (Sukweenadhi, 2019)

### c. Uji Pelarut Fosfat Bakteri G3 dan G4c

Dalam penelitian ini, uji pelarut fosfat dilakukan dengan menggunakan media Pikovskaya yang terdiri dari *yeast extract* yang berperan dalam penyedia nitrogen dan nutrisi lain yang diperlukan untuk pertumbuhan bakteri serta dekstrosa sebagai sumber energi. Hasil positif ditandai dengan adanya zona bening di sekitar koloni yang terbentuk karena kemampuan bakteri pelarut fosfat yang mampu melarutkan fosfat disekitar koloni yang tumbuh, Semakin luas diameter zona bening yang terbentuk disekitar bakteri semakin kuat kemampuan isolate bakteri dalam melarutkan fosfat (Husen, 2016).





(a)

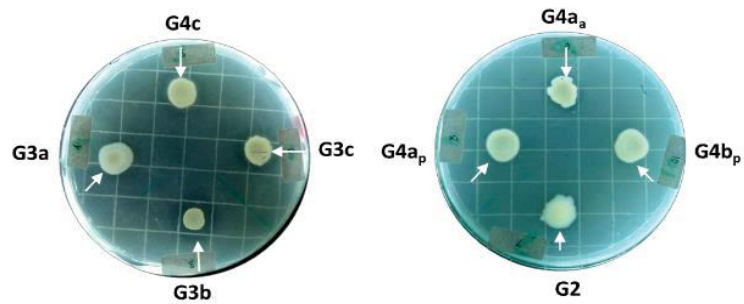


(b)

Gambar 14. Hasil uji pelarut fosfat. (a) isolate G3 dan (b) isolate G4c yang menunjukkan hasil negatif

Pada uji pelarut fosfat digunakan media pikovskaya agar yang berwarna putih keruh karena kandungan P yang tidak dapat larut seperti kalsium fosfat sehingga ketika bakteri yang tumbuh memiliki kemampuan untuk melarutkan fosfat maka akan terlihat zona bening disekitar koloni bakteri yang menandakan kadungan fosfat dari trikalsium fosfat (fosfat dalam bentuk tidak larut pada media Pikovskaya) (Pande et al., 2017) berhasil larut. Berdasarkan Gambar 14, dapat disimpulkan bahwa tidak diamati adanya zona bening pada isolate G3 dan G4c. Hasil negatif pada isolate bakteri G3 sesuai dengan hasil penelitian Sukweenadhi (2019), yang menyatakan bahwa isolat G3 merupakan bakteri yang tidak dapat melarutkan fosfat yang ditunjukkan dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar koloni. Namun hasil negative pada isolate G4c pada penekitian ini tidak sesuai dengan hasil penelitian Sukweenadhi (2019) dimana bakteri G4c terbukti mampu melarutkan fosfat dengan adanya zona bening disekitar koloni bakteri seperti pada gambar 15. Tidak terbentuknya zona bening pada isolate G4c dapat disebabkan oleh beberapa hal seperti rendahnya kemampuan melarutkan fosfat sehingga zona bening tidak dapat

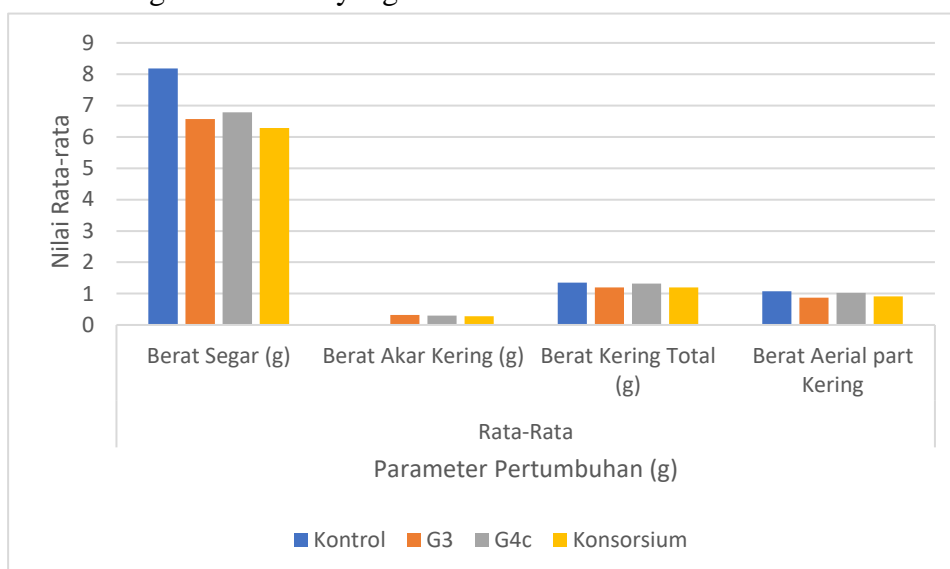
teramati, konsentrasi media pikovskaya yang digunakan masih terlalu tinggi (1/2 kuat) sehingga bakteri tidak mampu melarutkan fosfat dengan baik, terdapat kemungkinan adanya kandungan fosfat yang terlarut pada media sehingga bakteri dapat memanfaatkan fosfat tersebut untuk tumbuh. Media pikovskaya merupakan media *non-selective* yang kaya akan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri sehingga bakteri yang tidak dapat melarutkan fosfat pun mampu tumbuh dengan baik pada media tersebut.



**Gambar 15.** Zona bening yang menunjukkan hasil positif disekitar koloni (Sukweenadhi, 2019)

### 3.4.3. Pengaruh Perlakuan Isolat Bakteri G3, G4c dan Konsorsium Terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi Var. Ciherang

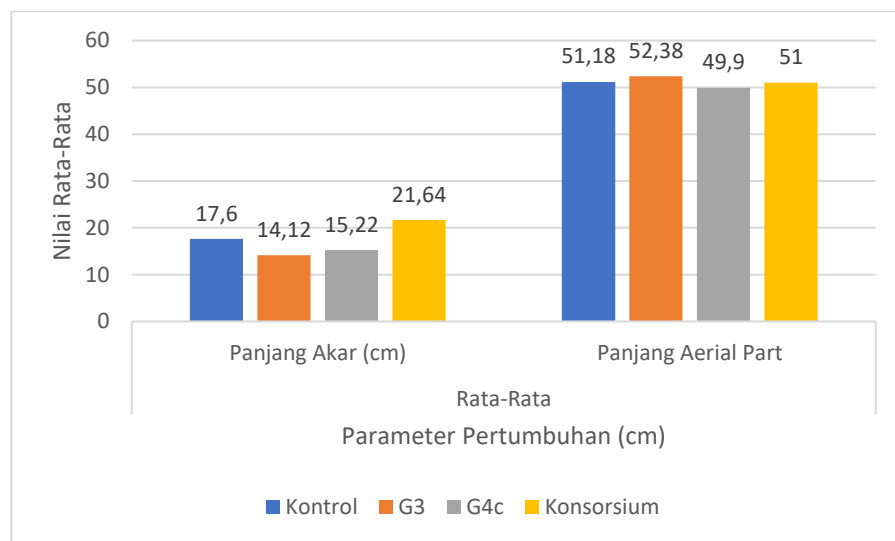
Untuk mengetahui pengaruh perlakuan isolat G3 dan G4c terhadap pertumbuhan padi tentunya diperlukan parameter pertumbuhan yang akan dijadikan sebagai acuan pengaruh aktivitas isolat G3 dan G4c sebagai bakteri pemacu pertumbuhan tanaman padi khususnya var. Ciherang. Kemampuan kedua bakteri tersebut dalam memproduksi fitohormon IAA, siderofor serta mampu melarutkan fosfat diduga memberikan pengaruh yang baik untuk menstimulasi pertumbuhan tanaman serta meningkatkan kualitas lahan pertanian dibandingkan tanaman yang tidak diberikan isolat bakteri tersebut.



**Gambar 16.** Nilai Rata-rata Parameter Pertumbuhan Berat Segar Total, Berat Segar Akar, Berat Kering Akar dan Berat Kering Aerial Part

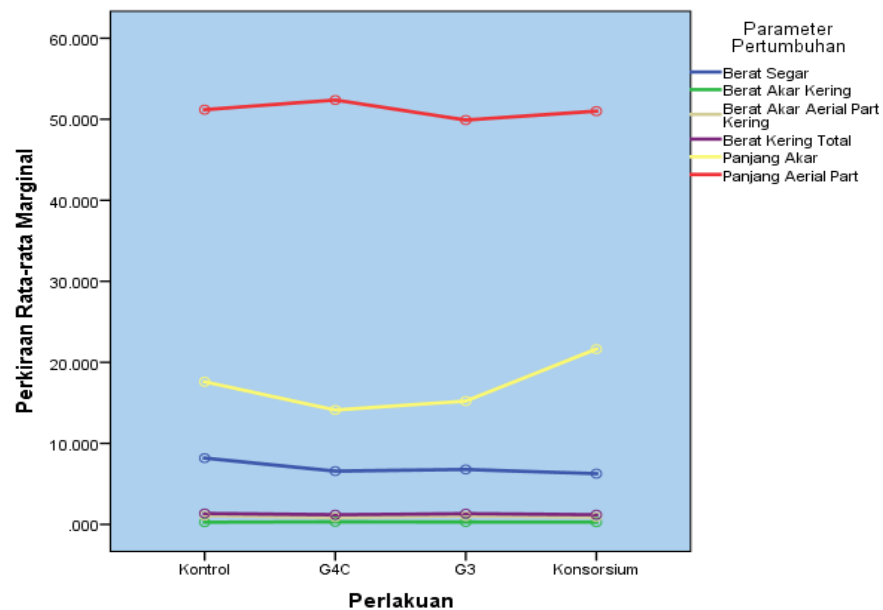
Masa inkubasi dilakukan hingga tanaman diperkirakan sudah memberikan perbedaan yang cukup signifikan sehingga dalam penelitian ini masa inkubasi tanaman padi adalah 46 hari setelah perlakuan. Di akhir masa inkubasi, dilakukan pengukuran parameter pertumbuhan yang meliputi berat dan panjang dari akar serta *aerial part* untuk melihat respon bakteri terhadap pertumbuhan tanaman. Berdasarkan hasil perhitungan rerata parameter pertumbuhan berat

perakaran tersebut (gambar 3.17) pada hasil berat segar serta berat kering total, perlakuan kontrol negatif menunjukkan hasil terbaik sedangkan perlakuan konsorsium memiliki nilai terendah pada parameter berat segar serta G3 pada nilai berat kering akar. Namun jika dilihat dari parameter panjang akar, perlakuan konsorsium sedangkan perlakuan G3 memberikan hasil tertinggi pada parameter panjang *aerial part*. (gambar 3.18)



**Gambar 17.** Nilai Rata-rata Parameter Pertumbuhan Panjang Akar dan Panjang Aerial Part

Jika dilihat dari keseluruhan hasil perkiraan rata-rata marginal dari keseluruhan parameter pertumbuhan (Gambar 3.19), parameter berat segar, berat akar kering, berat kering total, berat *aerial part* serta panjang *aerial part* tidak memiliki perbedaan yang nyata antara satu perlakuan dengan perlakuan lainnya namun pada parameter panjang akar menunjukkan perbedaan yang cukup signifikan pada perlakuan konsorsium dibandingkan perlakuan lainnya.



**Gambar 18.** Grafik Perkiraan Rata-Rata Marginal Perhitungan Parameter Pertumbuhan

Hal ini diperkuat dengan hasil uji *Anova* yang digunakan untuk menguji setiap perlakuan terhadap efisiensinya pertumbuhan padi Var. Cierang berdasarkan statistik F yang menunjukkan pemberian perlakuan baik kontrol, G3, G4 serta konsorsium tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan padi yang ditandai hasil yang tidak berbeda signifikan pada setiap parameter pertumbuhan. Untuk lebih membandingkan hasil antar parameter dilakukan uji lanjut *Tukey 5%* yang menyatakan bahwa terdapat perbedaan yang nyata antara perlakuan G3 dan konsorsium dimana perlakuan konsorsium memiliki hasil yang lebih besar (berbeda nyata) dibandingkan parameter G3. Sehingga disimpulkan bahwa berdasarkan uji *Tukey 5%*, parameter konsorsium memberikan respon pertumbuhan yang paling baik sedangkan parameter G3 memberikan respon pertumbuhan yang paling rendah namun tidak berbeda signifikan jika dibandingkan dengan parameter lainnya.

Selain itu, untuk membandingkan hasil dari perlakuan isolate bakteri G3, G4c dan konsorsium terhadap perlakuan kontrol, dilakukan uji lanjut *Dunnnett* 5% yang menyatakan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara perlakuan G4c, G3, dan konsorsium dengan perlakuan kontrol. Namun jika dianalisis dari selisih rata-ratanya antara ketiga perlakuan tersebut dengan kontrol diperoleh hasil terbaik yaitu konsorsium yang memiliki perbedaan selisih rata-rata tertinggi dengan kontrol sedangkan perlakuan G3 memiliki selisih rata-rata terendah dengan kontrol, namun perbedaan ini tidak signifikan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa selisih rata-rata antara perlakuan konsorsium dengan kontrol menunjukkan hasil tertinggi dibandingkan perlakuan pemberian bakteri lainnya namun hasil ini tidak berbeda nyata.

Respon pertumbuhan terbaik yang diberikan konsorsium pada penelitian ini disebabkan karena interaksi antara bakteri G3 dan G4c mampu bekerjasama untuk memberikan manfaat yang lebih optimal bagi pertumbuhan tanaman dibandingkan hanya bakteri G3 atau G4c saja. Menurut (Wuriesyliane *et. al.* 2013), Bakteri pemacu pertumbuhan tanaman yang terdapat dalam produk konsorsium memiliki manfaat dan kegunaan yang berbeda-beda sehingga dapat memberikan respon pertumbuhan serta produktivitas tanaman yang lebih optimal. Berdasarkan uji skrining *in vitro*, *Beijerinckia fluminensis* (G3) bukan merupakan bakteri pelarut fosfat sehingga dengan formulasi konsorsium menggunakan isolate *Rhizobium pusense* (G4c) dapat melengkapi perannya dalam melarutkan fosfat untuk meningkatkan asupan hara tanaman. Kemampuan kedua bakteri tersebut dalam memproduksi IAA dengan jumlah yang tinggi serta memproduksi siderofor berperan penting untuk menunjang perkembangan perakaran tanaman serta meningkatkan sistem pertahanan tanaman. Berbagai isolat yang digunakan untuk pupuk hayati seperti *Beijerinckia sp.* dan *Rhizobium sp.* (Thuar *et al.*,2004) dapat membantu meningkatkan kesuburan tanah dan kualitas hasil panen.

## BAB IV

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 4.1. Kesimpulan

1. Isolat bakteri G3 dan G4 mampu menghasilkan IAA dengan masing-masing konsentrasi 3,129 ppm dan 4,19 ppm. Isolat G3 dan G4c merupakan bakteri penghasil siderofor, namun isolate G3 tidak dapat melarutkan fosfat seperti pada isolate G4c yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat (Sukweenadhi, 2019). Pada penelitian ini, diperoleh hasil negatif pada uji produksi siderofor maupun uji pelarut fosfat pada kedua isolate hal ini disebabkan kondisi lingkungan yang kurang ideal serta rendahnya kepadatan populasi bakteri yang mempengaruhi kemampuan isolat dalam memproduksi siderofor dan melarutkan fosfat pada media.
2. Pemberian perlakuan bakteri *Beijerinckia fluminensis* G3 dan *Rhizobium pusense* G4c serta konsosiumnya pada padi Var. Ciherang tidak memberikan pengaruh yang nyata terhadap pertumbuhan tanaman yang diukur berdasarkan parameter pertumbuhan. Namun, berdasarkan hasil uji *Anova*, *Tukey* 5% dan *Dunnnett* 5% menyatakan perlakuan konsorsium memberikan respon pertumbuhan yang paling baik serta selisih rata-rata paling tinggi jika dibandingkan dengan kontrol sedangkan perlakuan G3 memberikan respon pertumbuhan yang paling rendah.

#### 4.2. Saran

1. Perbandingan komposisi tanah artificial dan kultur bakteri pada saat treatment sebaiknya diubah menjadi 2:1 karena perbandingan 1:1 membuat media tanah menjadi terlalu berair seperti lumpur dan kurang ideal bagi pertumbuhan padi
2. Penelitian selanjut lebih baik dilakukan pada ruang dengan kondisi lingkungan terkontrol yaitu menyerupai lingkungan di habitat aslinya

dengan menggunakan *growth Chamber* sehingga meminimalisir adanya faktor eksternal selain bakteri yang dapat mempengaruhi hasil

3. Pembuatan Reagen salkowsky sebaiknya menggunakan larutan asam H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk menghindari adanya kesalahan reaksi kalorimetri pada Uji in Vitro IAA
4. Pada proses pembuatan larutan standar IAA tidak disarankan untuk menggunakan pelarut etanol absolut karena akan menyebabkan reaksi kristalisasi pada saat menambahkan aquades. Sebaiknya menggunakan pelarut NaOH untuk memastikan IAA dapat terlarut dan tercampur dengan aquades secara sempurna.



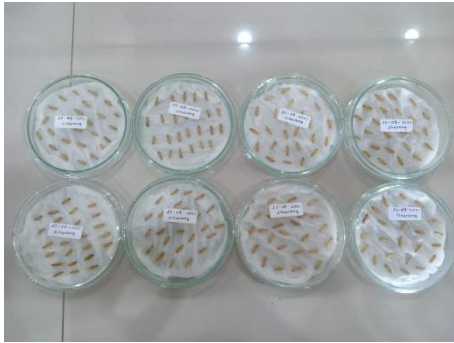
## DAFTAR PUSTAKA

- Cahyati, R. A. A., A. Nurul dan S. Titin. (2017). *Pengaruh Salinitas dan Aplikasi Bakteri Rizofer Toleran Salin Terhadap Komponen Hasil Tanaman Padi*. *Journal Biotropika* 3(5): 133-137.
- Dewi, T. K., E. S. Arum, H. Imamuddin, S. Antonius. (2015). *Karakterisasi Mikroba Perakaran (PGPR) Agen Penting Pendukung Pupuk Organik Hayari*. *Prosiding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia*. 1(2): 289-295.
- Dobbelaarcre, S., J. E. Vanderleyden, Y. Okon. (2003). *Plant Growth Promoting Effects of Diazotrophs in the Rhizosphere*. *Crit Rev Plant Sci*. 22: 107-149.
- Gofar, N., H. Widjajanti, dan N.L.P.S. Ratmini. (2012). *Populasi Bakteri Penambat Nitrogen Dan Pelarut Fosfat Pada Rizosfer Tanaman Pangan di Lahan*. *Prosiding Seminar Perhepi Pengelolaan Agribisnis Pangan pada Korporasi Lahan Suboptimal*.
- Husen, E. (2016). *Screening of Soil Bacteria for Plant Growth Promotion Activities In Vitro* dalam *Indonesian Journal of Agricultural Science*, 4(1), 27-31.
- Hutapea A. J. (2018). *Potensi Bakteri Pelarut Fosfat, Pengikat Nitrogen Dan Penghasil Hormon IAA Dari Rhizosfer Tumbuhan Poaceae Pantai Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Padi (Oryza sativa L.)*. *Skripsi*. Universitas Sumatera Utara: Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam.
- Irianto, G. (2010). *Pemupukan Berimbang Saja Tidak Cukup* dalam *Sinar Tani*. 3345:7.
- Joshi, M. H., Patil, A. A., & Adivarekar, R. V. (2021). *Characterization of Brown-Black Pigment Isolated from Soil Bacteria, Beijerinckia fluminensis in bioRxiv*.
- Kumala S, Siswanto EB. (2007). *Isolation and Screening of Endophytic from Morinda citrifolia and Their Tbility to Produce Anti-microbial Substance* dalam *Microbiol Indonesia*.
- Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M. (2011). *Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection* dalam *Journal of microbiology & biology education*, 12(1), 51–53.
- Marista, E., Khotimah, S. dan Linda, R. (2013). *Bakteri Pelarut Fosfat Hasil Isolasi dari Tiga Jenis Tanah Rizosfer Tanaman Pisang Nipah (Musa paradisiaca var. Nipah) di Kota Singkawang* dalam *Protobiont*. 2(2), 93-101.
- Marlina, Setyono, Mulyaningsih, Y. (2017). *Pengaruh Umur Bibit dan Jumlah Bibit Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Panen Padi Sawah (Oryza sativa) Varietas Ciherang*. Bogor: Fakultas Pertanian, Universita Djuanda Bogor.

- Marlina, N., Gofar, N., Subakti, A. H. P. K., & Rohim, A. M. (2014). *Improvement of Rice Growth and Productivity Through Balance Application of Inorganic Fertilizer and Biofertilizer in Inceptisol Soil of Lowland Swamp Area* dalam *AGRIVITA, Journal of Agricultural Science*, 36(1), 48-56.
- Nezharia Nurza Harca. (2015). *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil Indole Acetic Acid Dari Tanah Perkebunan Kelapa Sawit, Jambi*.
- Oggerin, M., Arahall, D. R., Rubio, V., & Marín, I. (2009). *Identification of Beijerinckia fluminensis Strains CIP 106281T And UQM 1685T As Rhizobium Radiobacter Strains, and Proposal of Beijerinckia Doeberineriae Sp. Nov. to Accommodate Beijerinckia Fluminensis LMG 2819* dalam *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 59(9): 2323-2328.
- Pande, A., Pandey, P., Mehra, S., Singh, M., & Kaushik, S. (2017). *Phenotypic and Genotypic Characterization of Phosphate Solubilizing Bacteria and Their Efficiency on The Growth of Maize* dalam *Journal, genetic engineering & biotechnology*, 15(2), 379–391.
- Rahman, Atiqur., Sitepu, Irnayuli R., Tang, Sui-Yan., Hashidoko, Yasuyuki. (2010). *Salkowski's Reagent Test as a Primary Screening Index for Functionalities of Rhizobacteria from Wild Dipterocarp Saplings Growing Naturally on Medium-Strongly Acidic Tropical Peat Soil* dalam *Biosci. Biotechnol. Biochem*, 74(11), 2202-2208, 2010.
- Silitonga, D. M. N. Priyani dan I. Nurwahyuni. (2008). *Isolasi dan Uji Potensi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (Glicine max L.) pada Tanah Kuning*. Departemen Biologi. Fakultas MIPA. USU. Medan.
- Sukweenadhi, J., Purwanto, M. G. M., Hardjo, P. H., Kurniawan, G., & Artadana, I. B. M. (2019, September). *Isolation And In Vitro Screening of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Barak Cenana Red Rice* dalam *AIP Conference Proceedings*, Vol. 2155, No. 1, p. 020037.
- Sutanto, Kevin. (2021). *Pengaruh Penambahan Isolat Beijerinckia Fluminensis G3 dan Rhizobium Pusense G4c Terhadap Perkecambahan Padi Var. Cihayang dan Padi Merah Var. Barak Cenana*. Skripsi. Surabaya: Fakultas Teknobiologi UBAYA. Belum diterbitkan.
- Simanungkalit, R.D.M, Suriadikarta, A.D, Saraswati, R., Setyorini, D., dan Hartatik, W. (2006). *Pupuk Organik dan Pupuk Hayati Organic Fertilizer and Biofertilizer*. Balai Besar Litbang Sumberdaya Lahan Pertanian Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jawa Barat.
- Sukweenadhi, Johan., Yeon-Ju, Kim., Kwang Je, Lee., Sung-Cheol, Koh., Van-An, Hoang., Ngoc-Lan, Nguyen., Deok-Chun, Yang. (2014). *Paenibacillus yonginensis sp. nov., a Potential Plant Growth Promoting Bacterium Isolated*

- from Humus Soil of Yongin Forest. Antonie van Leeuwenhoek* (2014) 106: 935-945.
- Sukmadewi, D. K. T., Suharjono, Antonius S., (2015). *Uji Potensi Bakteri Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) dari Tanah Rhizosfer Cengkeh (Syzigium aromaticum L.). Jurnal Biotropika* Vol.3 No. 2
- Sutanto, R. (2002). *Pertanian Organik: Menuju Pertanian Alternatif dan Berkelanjutan*. Kanisius: Yogyakarta.
- Thuar, A.M., C.A. Olmedo, C. Bellone. (2004). *Greenhouse studies on growth promotion of maize inoculated with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR)*. [http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscript s/thuar.pdf](http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscript_s/thuar.pdf) [12 November 2021].
- Toppo SR. Tiwari P. (2015). *Phosphate Solubilizing Rhizospheric Bacterial Communities of Different Crops of korea District of Chhattisgarh, India. Academic journal*. 9(25): 1629-1636.
- Wuriesyliane, Nuni, G. Madjid, A. dan Putu. (2013). *Pertumbuhan dan Hasil Padi Pada Inseptisol Asal Rawa Lebak yang Diinokulasi Berbagai Konsorsium bakteri Penyumbang Unsur Hara dalam Lahan Suboptimal* Vol. 10(2): 21-24.
- Zaeroni, Riko; Rustariyuni, Surya Dewi. (2016). *Pengaruh Produksi Beras, Konsumsi Beras Dan Cadangan Devisa Terhadap Impor Beras di Indonesia dalam E-Jurnal EP Unud* Vol. 5(9): 993-1010.

## LAMPIRAN



Lampiran 1. Penanaman benih pada media tisu basah



Lampiran 2. Padi yang telah berkecambah



Lampiran 3. Pencetakan media dalam LAF



Lampiran 4. Proses inokulasi isolate G3 dan G4c



Lampiran 5. Penimbangan pasir sebelum dimasukkan ke dalam pot



Lampiran 6. Proses penyiraman kultur bakteri dan pemindahan tanah ke dalam pot



Lampiran 7. Kondisi tanah setelah diberi kultur bakteri



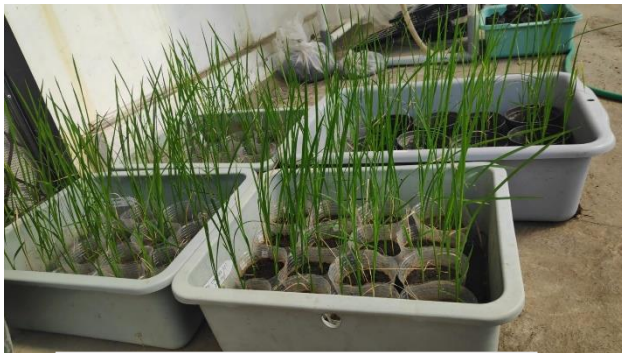
Lampiran 8. Proses penanaman kecambah padi ke dalam media tanah



Lampiran 9. Pertumbuhan padi pada hari ke-3



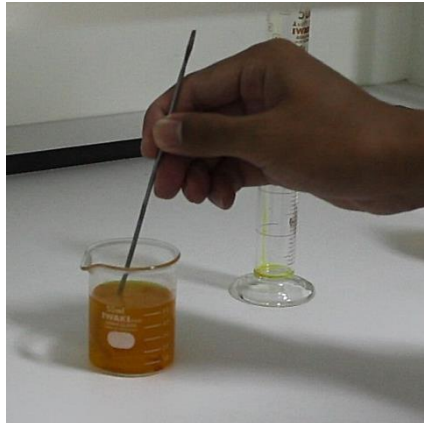
Lampiran 10. Pertumbuhan padi pada hari ke-6



Lampiran 11. Pertumbuhan padi pada hari ke-9



Lampiran 12. Pertumbuhan padi pada hari ke-46



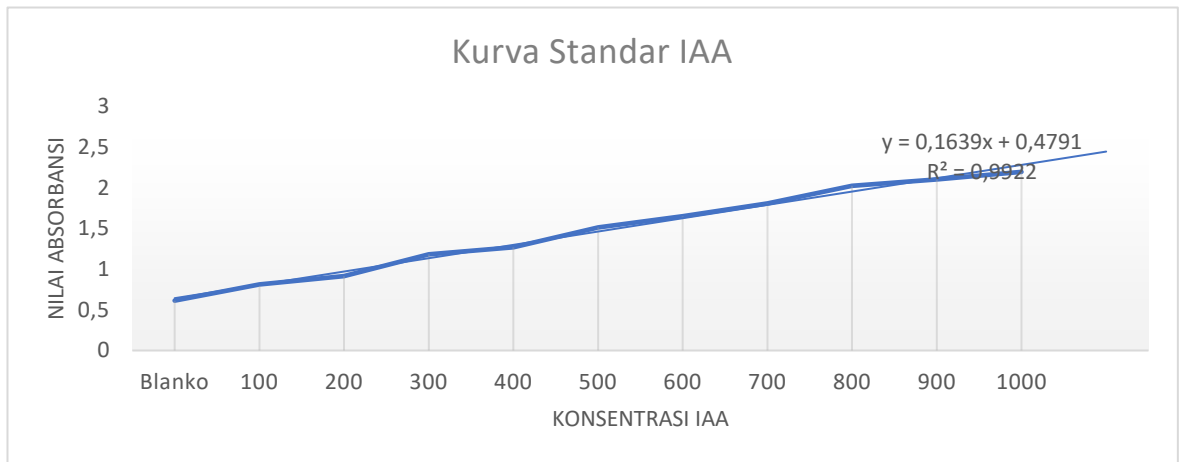
Lampiran 13. Proses pembuatan reagen Salkowski di ruang asam



Lampiran 14. Uji produksi IAA dalam ruang gelap



Lampiran 15. Uji pelarut fosfat dan produksi siderofor



**G3 (Nilai absorbansi= 0,992)**

$$y = 0,1639x + 0,4791$$

$$0,992 = 0,1639x + 0,4791$$

$$0,1693x = 0,992 - 0,4791$$

$$x = \frac{0,992 - 0,4791}{0,1693}$$

$$x = 3,129$$

**G4 (Nilai absorbansi= 1,166)**

$$y = 0,1639x + 0,4791$$

$$1,166 = 0,1639x + 0,4791$$

$$0,1693x = 1,166 - 0,4791$$

$$x = \frac{1,166 - 0,4791}{0,1693}$$

$$x = 4,19$$

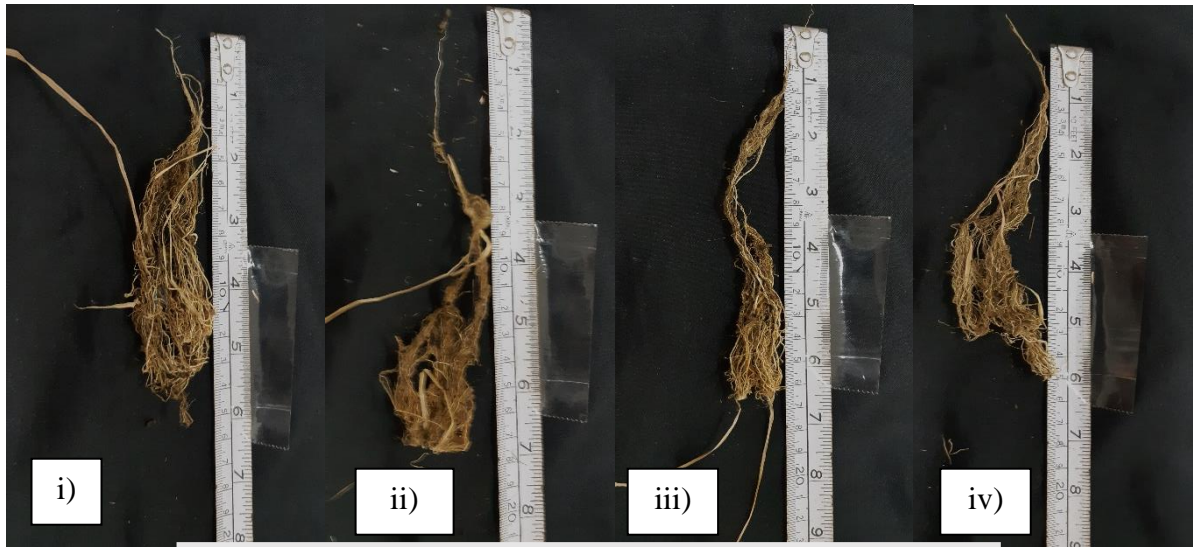
Lampiran 16. Kurva standar dan perhitungan uji IAA



Lampiran 17. Pengukuran *aerial part* pada hari ke-46 G3 (i), G4 (ii), Konsorsium (iii), dan Kontrol negatif (iv)

iv





Lampiran 18. Pengukuran panjang akar pada hari ke-46 G3 (i), G4 (ii), Konsorsium (iii), dan Kontrol negatif (iv)