

Karakterisasi dan Seleksi Beberapa Isolat *Azotobacter* sp. untuk Meningkatkan Perkecambahan Benih dan Pertumbuhan Tanaman

Happy Widiastuti*, Siswanto, dan Suharyanto

¹Balai Penelitian Bioteknologi Perkebunan Indonesia, Jl. Taman Kencana No. 1 Bogor 16151
Telp. (0251) 8324048, 8327449; Faks. (0251) 8328516; *E-mail: happywidiastuti@yahoo.com

Diajukan: 1 April 2010; Diterima: 15 November 2010

ABSTRACT

Characterization and Selection of *Azotobacter* sp. in Enhancing Seed Germination and Growth of Plant.

Nitrogen (N) is a macro nutrient needed by the plant. Chemical synthesis of N fertilizer need high energy input. On the other hand, *Azotobacter* sp. has been known as a free living nitrogen fixing bacteria. This bacteria is also known as growth factor producing bacteria such as indole acetic acid (IAA) and extracellular polysaccharide. The ability of *Azotobacter* sp. in fixing N and producing IAA was affected by strain type of the bacteria as well as the origin of the isolate. It had been characterized 44 isolates of *Azotobacter* sp. isolated from selected dry habitat such as oil palm in Sekayu (South Sumatera), coffee and cashew nut tree in NTT, corn crops in Banjar (South of Kalimantan), and rubber tree in Bogor (West Java). Isolation was conducted using Ashby media. Based on their ability in producing IAA, promoting germination of the seed and growth of leguminous cover crops *Pueraria phaseoloides*. The result showed that isolate of 116(2), from Sikka, Flores, (NTT), produced highest IAA i.e 2.815 μ M within the third day and 4.02 μ M in the sixth day incubation time. Strain D1/8B (isolated from oil palm plantation in South Sumatera) and S5 (isolated from corn in South Kalimantan) could increase 2-3 times number of germinating seed of *P. phaseoloides* for the third days. *Azotobacter* sp. isolate of D1/2, 107, and 113 in combination with 50% recommended doses of chemical fertilizer could enhance the growth of plant (fresh and dry biomass total) of sorghum higher compared to 100% chemical fertilizer doses (control). Isolate of D1/2 originated from South of Sumatera improved germination of seed, and enhanced the growth of sorghum, while isolate of 113 from Sikka, Flores, NTT had the ability to increase the growth of sorghum during one month in glass house experiment.

Keywords: *Azotobacter* sp., characterization, *Pueraria phaseoloides* seed germination, sorghum.

ABSTRAK

Nitrogen (N) merupakan unsur makro yang diperlukan oleh tanaman. Bakteri *Azotobacter* sp. diketahui dapat memfiksasi N secara nonsimbiotik dan menghasilkan hormon tumbuh seperti IAA dan polisakarida ekstraseluler. Kemampuan pe-

nambatan N dan produksi IAA dipengaruhi oleh galur bakteri dan asal isolat. Penelitian dilakukan untuk mengkarakterisasi 44 isolat *Azotobacter* sp. yang diisolasi dari beberapa habitat lahan kering, yaitu perkebunan kelapa sawit di Sekayu (Sumsel), perkebunan kopi dan jambu mete di Nusa Tenggara Timur, areal tanaman jagung di Banjar (Kalsel), dan kebun karet di Bogor (Jabar). Isolasi bakteri *Azotobacter* sp. dilakukan menggunakan medium Ashby. Isolat yang diperoleh diuji kemampuannya menghasilkan IAA dan pengaruhnya terhadap perkecambahan benih serta pertumbuhan kacang penutup tanah (*Pueraria phaseoloides*). Hasil percobaan menunjukkan bahwa isolat 116 (2) menghasilkan IAA tertinggi, yaitu 2,815 μ M pada hari ke-3 dan 4,02 μ M pada hari ke-6. Isolat tersebut berasal dari Sikka, Flores, NTT. Isolat D1/8B (asal perkebunan kelapa sawit di Sumsel) dan S5 (asal areal tanaman jagung di Kalimantan) dapat meningkatkan 2-3 kali jumlah benih *P. phaseoloides* yang berkecambah pada hari ke-3. Isolat D1/2, 107, dan 113 dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman sorgum (total biomasa basah dan kering) lebih tinggi dibandingkan dengan pupuk NPK 100%. Isolat D1/2 asal Sumsel meningkatkan perkecambahan benih dan pertumbuhan sorgum relatif tinggi, sedang isolat 113 asal Sikka, Flores, NTT, mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman sorgum.

Kata kunci: *Azotobacter* sp., karakterisasi, perkecambahan *Pueraria phaseoloides*, pertumbuhan sorgum.

PENDAHULUAN

Atmosfer tersusun oleh 80% gas nitrogen (N_2), tetapi nitrogen dalam bentuk N_2 tidak dapat dimanfaatkan secara langsung oleh sebagian besar organisme hidup. Nitrogen merupakan hara makro yang paling penting untuk mendukung pertumbuhan tanaman. Unsur ini merupakan elemen utama yang terdapat dalam jaringan tanaman dan sebagian besar diperoleh tanaman dari dalam tanah melalui akar. Nitrogen yang terkandung di dalam jaringan tanaman cukup tinggi, yaitu sekitar 2% dari bobot kering total tanaman dan merupakan komponen protein, asam nukleat, koenzim, dan beberapa senyawa metabolit sekunder. Pada pertanian organik,

N merupakan faktor pembatas karena rendahnya kandungan N kompos dibandingkan dengan urea dengan kadar N 46% (Miller dan Cramer, 2004).

Untuk mencukupi kebutuhan tanaman, khususnya hara N, diperlukan pemupukan. Pemupukan N juga diperlukan untuk menggantikan N yang terbawa pada saat tanaman dipanen. Namun efisiensi pemupukan N pada tanaman umumnya sangat rendah. Scheiner *et al.* (2002) melaporkan bahwa efisiensi pemupukan N pada tanaman bunga matahari hanya sekitar 50%. Hal ini merupakan masalah serius yang membawa konsekuensi terhadap ekonomi dan lingkungan. Proses produksi pupuk N memerlukan energi yang tinggi. Meningkatnya harga bahan bakar minyak berdampak terhadap peningkatan harga pupuk kimia, khususnya N. Kenyataan ini mengharuskan untuk mencari pengganti pupuk sintetis N yang lebih murah, sehingga kebutuhan hara makro tetap tercukupi dengan biaya yang murah dan hemat energi.

Beberapa mikroba dikenal mampu menghasilkan N melalui fiksasi N. Bakteri pemfiksasi N mengubah N_2 menjadi NH_4^+ . Terdapat banyak bakteri pemfiksasi N yang tumbuh dengan baik pada perakaran tanaman dengan kandungan N yang rendah. Dua kelompok mikroba penambat N_2 adalah yang bersimbiosis dan nonsimbiosis. Penggunaan bakteri pemfiksasi N nonsimbiosis lebih luas dibandingkan dengan simbiosis. Genus bakteri pemfiksasi N nonsimbiosis aerob yang telah dikenal adalah *Azospirillum*, *Derxia*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, *Azomonas*, dan *Azotobacter*. Asosiasi antara pemfiksasi N nonsimbiosis dengan tanaman merupakan sumbangan N terhadap tanaman. Kemampuan fiksasi N *Azotobacter* sp. rata-rata 10 mg N/g gula pada kultur murni dalam medium bebas N dan nilai maksimum yang dilaporkan oleh Lopatina ialah 30 mg N/g gula. Rao (1982) mengemukakan bahwa kemampuan fiksasi N bakteri *Azotobacter* berkisar antara 2-15 mg N/g sumber karbon. Sebagian besar bakteri ini mengoksidasi sekitar 1.000 kg bahan organik untuk memfiksasi N sebanyak 30 kg N/ha.

Azotobacter sp. memiliki kelebihan dibandingkan dengan bakteri penambat N atmosfer nonsimbiotik lainnya, karena mampu mensintesis hormon seperti IAA. Sintesis IAA pada bakteri melalui jalur asam indol piruvat. IAA yang disekresi-

kan bakteri memacu pertumbuhan akar secara langsung dengan menstimulasi pemanjangan atau pembelahan sel atau secara tidak langsung mempengaruhi aktivitas ACC deaminase. ACC deaminase yang dihasilkan oleh banyak bakteri pemacu pertumbuhan tanaman mencegah produksi etilen pada tingkat yang menghambat pertumbuhan tanaman (Patten dan Glick, 2002). Tampaknya antara ACC deaminase dan IAA bekerja bersama-sama dalam menstimulasi pemanjangan akar.

Azotobacter sp. dikenal sebagai penghasil polisakarida ekstraseluler seperti alginat dan polimer. Alginat dapat berfungsi sebagai enkapsulasi sel mikroba dan hewan serta untuk biosorpsi logam. Namun alginat dari *Azotobacter* sp. berfungsi melindungi nitrogenase sehingga meningkatkan fiksasi N (Sabra *et al.*, 2000). Di dalam sel bakteri, polisakarida ekstraseluler berfungsi mengabsorpsi logam. Biosorpsi logam seperti Cu, Zn, dan Fe ialah 15,5, 20, dan 25 mg/g polisakarida atau 12,5; 6,5; dan 10 mg/g kering sel (Emtiazi *et al.*, 2004). Kemampuan mengkelat logam sangat bermanfaat dalam remediasi daerah bekas tambang. Penelitian ini bertujuan mengkarakterisasi beberapa isolat *Azotobacter* sp. yang diperoleh dari beberapa habitat, terutama dalam menghasilkan IAA, dan pengaruhnya terhadap peningkatan perkecambahan benih *P. phaseoloides* dan pertumbuhan tanaman sorgum.

BAHAN DAN METODE

Isolasi

Azotobacter sp. contoh diambil dari perakaran tanaman kelapa sawit (Muba, Sumsel), jagung (Banjar, Kalsel), karet (Bogor), kopi rakyat (Manggarai dan Ngada, NTT), dan jambu mete (Sumbawa, Kupang, Sikka Flores, NTT) untuk diisolasi (Tabel 1). Sebanyak 2 g tanah dimasukkan ke dalam media Ashby dan diinkubasi pada 30°C selama 4-7 hari hingga terbentuk *pellicle* pada permukaan media. Isolasi *Azotobacter* sp. dilakukan dari *pellicle* dengan metode gores pada media agar Ashby, kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 3-4 hari dan dilakukan pengamatan pertumbuhan koloni (Rao, 1981).

Tabel 1. Produksi IAA beberapa isolat *Azotobacter* sp. dan pengaruhnya terhadap perkecambahan biji *P. phaseoloides*.

Sandi isolat	Asal isolat	Produksi IAA (3 hari) μ M	Produksi IAA (6 hari) μ M	Berkecambah pada hari ke- (%)
D1/1 B	Muba, Sumatera Selatan	2,413	3,405	6 (33)
D1/2	Muba, Sumatera Selatan	2,011	3,981	3 (33)
D1/4B	Muba, Sumatera Selatan	2,440	3,941	5 (33)
D1/5A	Muba, Sumatera Selatan	1,957	2,936	4 (33)
D1/5B	Muba, Sumatera Selatan	0,268	0,898	-
D1/6A	Muba, Sumatera Selatan	1,649	2,225	6 (33)
D1/7A	Muba, Sumatera Selatan	2,480	2,520	4 (33)
D1/7B	Muba, Sumatera Selatan	1,783	2,359	4 (33)
D1/8A	Muba, Sumatera Selatan	1,676	1,883	6 (33)
D1/8B	Muba, Sumatera Selatan	0,938	1,113	3 (100)
Blok C5	Muba, Sumatera Selatan	0,791	0,858	3 (33)
Blok C6	Muba, Sumatera Selatan	1,850	3,990	4 (66)
P5	Banjar, Kalimantan Selatan	0,509	1,890	6 (66)
P6	Banjar, Kalimantan Selatan	0,308	0,818	7 (33)
S1	Banjar, Kalimantan Selatan	2,668	2,895	3 (33)
S4	Banjar, Kalimantan Selatan	0,449	1,723	-
S5	Banjar, Kalimantan Selatan	1,542	1,220	3 (100)
S6	Banjar, Kalimantan Selatan	0,174	0,858	3 (66)
S7	Banjar, Kalimantan Selatan	1,997	2,815	6 (66)
D3.2	Banjar, Kalimantan Selatan	2,024	3,304	-
E34	Banjar, Kalimantan Selatan	1,019	1,488	3 (33)
Krt	Bogor, Jawa Barat	2,446	3,001	3 (66)
Sb1	Sumbawa, NTT	0,871	1,903	-
Sb2	Sumbawa, NTT	0,188	0,362	4 (66)
Sb3	Sumbawa, NTT	1,749	2,983	7 (33)
Sb4	Sumbawa, NTT	2,399	3,579	-
100(1)	Kupang, NTT	1,448	1,984	5 (33)
100(2)	Kupang, NTT	2,399	2,661	3 (33)
101	Kupang, NTT	1,448	2,587	3 (33)
107	Manggarai dan Ngada, NTT	2,346	1,957	4 (100)
108	Manggarai dan Ngada, NTT	2,399	3,472	3 (33)
109	Manggarai dan Ngada, NTT	0,603	1,113	7 (66)
110	Manggarai dan Ngada, NTT	0,121	1,247	4 (33)
111(1)	Sikka Flores, NTT	0,241	1,153	3 (33)
111(2)	Sikka Flores, NTT	0,362	0,724	-
112	Sikka Flores, NTT	0,201	0,550	6 (33)
113	Sikka Flores, NTT	0,295	0,643	3 (33)
114	Sikka Flores, NTT	1,595	1,716	3 (66)
115	Sikka Flores, NTT	1,394	2,889	4 (66)
116(1)	Sikka Flores, NTT	0,550	1,287	-
116(2)	Sikka Flores, NTT	2,815	4,021	7 (33)
117	Sikka Flores, NTT	2,198	1,233	4 (66)
118	Sikka Flores, NTT	1,756	2,185	7 (33)
Kontrol	-	-	-	3 (33)

Uji Kemampuan Menghasilkan IAA

Sebanyak 44 isolat hasil isolasi selanjutnya diuji kemampuannya menghasilkan IAA. Pada tahap pertama, 1 ml suspensi bakteri yang ditumbuhkan pada medium Ashby cair ditambahkan 4 ml reagen Salkowski, kemudian divorteks dan didiamkan pada suhu ruang selama 20 menit. Tahap selanjutnya ialah pengukuran IAA dengan spektrofotometer

pada panjang gelombang 535 nm, diukur pada hari ke-3 dan ke-6. Kadar IAA dibandingkan dengan larutan standar yang telah disiapkan terlebih dahulu.

Pengujian *Azotobacter* sp. pada Perkecambahan Benih *P. phaseoloides*

Pada tahap ini semua isolat yang diperoleh diuji kemampuannya membantu perkecambahan benih tanaman kacang *Pueraria phaseoloides*. Sebagai kontrol ialah benih *P. phaseoloides* yang tidak diinokulasi *Azotobacter* sp. tetapi ditetesi air. Pada tahap awal, kultur bakteri diremajakan dan selanjutnya dibuat inokulum. Pada tahap selanjutnya kertas saring dimasukkan ke dalam botol kecil, kemudian ditutup aluminium foil dan botol disterilkan. Ke dalam botol steril dimasukkan tiga biji *P. phaseoloides* yang telah direndam air hangat selama 1 jam untuk tiap botol. Biji selanjutnya diinokulasi dengan isolat bakteri ($200 \mu\text{l } 10^8 \text{ sel/ml}$) sesuai perlakuan. Perkecambahan biji diamati hingga hari ke-6 setelah inokulasi. Selanjutnya jumlah benih yang berkecambah dihitung.

Pengujian *Azotobacter* sp. pada Pertumbuhan Tanaman Sorgum

Pengujian dilakukan dalam pot gelas berkapasitas tanah 200 g. Sebagai kontrol dilakukan pemupukan NPK 100% dosis anjuran (urea 1 g, SP 36 2 g, dan KCl 0,5 g/pot). Sorgum yang diinokulasi *Azotobacter* sp. dipupuk NPK 50% dosis anjuran. Inokulum *Azotobacter* sp. diinokulasi sebanyak 10 ml (10^8 sel/ml). Selain kontrol juga terdapat satu pot tanpa perlakuan (blanko). Tanah yang digunakan sebagai media tanam sorgum ialah tanah masam Ciomas steril (oven). Rancangan percobaan yang digunakan ialah rancangan acak lengkap dan masing-masing perlakuan diulang dua kali, masing-masing terdiri atas satu tanaman tiap ulangan. Pengamatan dilakukan setelah tanaman berumur 1 bulan terhadap bobot basah serta bobot kering.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat *Azotobacter* sp. yang diisolasi dari beberapa habitat mampu memproduksi IAA. Isolat yang mampu menghasilkan IAA di atas $2 \mu\text{M}$ setelah 3 hari inkubasi berjumlah 13 isolat, sedangkan 20 isolat mampu menghasilkan IAA di atas $2 \mu\text{M}$ setelah 6 hari inkubasi (Tabel 1). Di antara 20 isolat

tersebut, 11 di antaranya mengalami peningkatan sintesis IAA dan sembilan isolat lainnya mengalami peningkatan sintesis IAA pada hari ke-6 inkubasi menjadi lebih dari $2 \mu\text{M}$. Dari 44 isolat *Azotobacter* sp. yang diuji sebanyak enam isolat mengalami penurunan IAA pada hari ke-6. Hal ini menunjukkan bahwa sintesis IAA dipengaruhi oleh galur dan umur kultur.

Isolat 116 (2) yang berasal dari perkebunan jambu mete di Sikka Flores, NTT, menghasilkan IAA tertinggi pada hari ke-3 ($2,815 \mu\text{M}$), demikian pula pada hari ke-6 ($4,021 \mu\text{M}$). Hal ini menunjukkan terdapat variasi yang cukup lebar di antara isolat yang diisolasi dalam hal kemampuan dan kecepatan mensintesis IAA. Konsentrasi IAA merupakan hal penting dalam aplikasi IAA. Hasil penelitian menunjukkan, akar primer dapat diinduksi oleh IAA pada konsentrasi yang sangat rendah, berkisar antara 10^{-9} - 10^{-12} M dan terhambat pada konsentrasi IAA yang tinggi, misalnya auksin menginduksi etilen. Konsentrasi IAA yang dihasilkan *Azotobacter* sp. dalam penelitian ini lebih tinggi dari 10^{-9} M, berkisar antara $0,121 \cdot 10^{-6}$ - $2,815 \cdot 10^{-6}$ M pada hari ke-3 dan $0,362 \cdot 10^{-6}$ - $4,021 \cdot 10^{-6}$ M pada hari ke-6. Namun lebih rendah dibandingkan dengan IAA yang dilaporkan Maslahat dan Suharyanto (2005), yaitu $413,75 \cdot 10^{-6}$ M dan $140 \cdot 10^{-6}$ M masing-masing dari isolat yang diisolasi dari BPBPI dan Kebun Percobaan Ciomas. Ahmad *et al.* (2005) melaporkan bahwa sintesis IAA oleh bakteri dengan adanya 5 mg/ml triptofan ialah 7,3-32,8 mg/ml dan pada kondisi tanpa triptofan 2,68-10,8 mg/ml.

Benih tanpa inokulasi (kontrol) mulai berkecambah pada hari ke-3 sebesar 33% (Tabel 1). Inokulasi lima isolat (D1/8B, S5, S6, Krt, dan 114) pada benih *P. phaseoloides* mampu meningkatkan perkecambahan biji pada hari ke-3 sebesar 2-3 kali lebih tinggi (66-100%) dibandingkan dengan kontrol. Sebanyak dua isolat terbukti mampu meningkatkan perkecambahan benih hingga 100% pada hari ke-4 (isolat 107, 117), sedangkan enam isolat lainnya hanya mampu memacu perkecambahan benih hingga 66% setelah inkubasi di atas tiga hari (isolat Blok C6, P5, S7, Sb109, dan 115). Namun, dalam uji ini, tujuh isolat tidak mampu meningkatkan perkecambahan benih *P. phaseoloides*. Hal ini menunjukkan bahwa inokulasi beberapa isolat yang

diuji mampu membantu meningkatkan jumlah biji yang berkecambah. Peningkatan kemampuan mengecambahkan benih kemungkinan disebabkan oleh pengaruh IAA. Tampaknya konsentrasi IAA sangat berpengaruh terhadap kemampuan isolat dalam meningkatkan jumlah benih yang berkecambah.

Hasil seleksi berdasarkan kemampuan menghasilkan komponen bobot basah pucuk dan akar menunjukkan bahwa hanya terdapat delapan isolat yang unggul (di atas perlakuan pupuk NPK 100%). Kemampuan sintesis IAA terhadap delapan isolat tersebut bervariasi antara 0,362-3,99 μM . Tampaknya variasi sintesis IAA terhadap delapan isolat cukup besar, sehingga kemungkinan IAA dapat meningkatkan biomasa basah akar. Peningkatan perakaran ialah salah satu penanda adanya pengaruh bakteri pemacu pertumbuhan. Tingginya pemanjangan akar, khususnya akar primer atau perbanyak-an akar lateral dan akar yang tumbuh bukan dari akar (pangkal batang atau stek) sangat menguntungkan, khususnya bagi tanaman muda karena dapat meningkatkan serapan hara, air, dan merupakan pendukung tegaknya tanaman (Patten dan Glick, 2002). Berdasarkan bobot basah kedua komponen tersebut, yaitu pucuk dan akar, hanya dua isolat, yaitu Sb2 (0,362 μM) dan 113 (0,643 μM) yang menghasilkan bobot basah pucuk dan akar di atas perlakuan pupuk NPK 100%. Isolat SB 2 berasal dari Sumbawa (NTT), sedangkan isolat 113 dari Sikka Flores. Tanaman sorgum yang diinokulasi dengan lima isolat yaitu D1/2, D1/5B, 107, 113, dan 116(2) menghasilkan bobot basah total di atas bobot basah total tanaman yang dipupuk NPK 100%.

Berdasarkan bobot kering pucuk sorgum terdapat 11 isolat yang dapat menghasilkan bobot kering di atas perlakuan pemupukan NPK 100%, sedangkan berdasarkan bobot kering akar terdapat 15 isolat menghasilkan bobot kering akar di atas perlakuan pemupukan NPK 100%. Berdasarkan bobot kering pucuk dan akar terdapat sembilan isolat (D1/2, D1/4B, D1/5A, P5, S4, S6, 107, 111(1), dan 113) yang menghasilkan bobot kering di atas bobot kering sorgum yang dipupuk NPK 100%. Biomasa kering total tanaman yang diinokulasi 12 isolat (D1/2, D1/4B, D1/5A, D1/7A, P5, S4, S5, S6, 107, 111(1), 111(2), dan 113) lebih tinggi dibandingkan dengan biomasa total kering tanaman yang dipupuk

NPK 100%. Berdasarkan data biomasa total (basah dan kering) maka tanaman sorgum yang diinokulasi tiga isolat (D1/2, 107, dan 113) menghasilkan biomasa lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang dipupuk NPK 100%.

Dari hasil yang diperoleh selanjutnya dipilih isolat yang menghasilkan bobot basah dan bobot kering tanaman, produksi IAA dan kemampuannya mengecambahkan benih *P. phaseoloides* yang relatif tinggi. Hasil seleksi menunjukkan bahwa satu isolat, yaitu isolat D1/2 yang diisolasi dari Muba, Sumsel, menunjukkan kemampuan menghasilkan IAA, meningkatkan perkecambahan benih, dan meningkatkan biomasa sorgum relatif stabil dan tinggi. Berdasarkan kemampuan membantu perkecambahan benih, meningkatkan biomasa kering, bobot kering pucuk dan akar atau keduanya, terpilih isolat 113 (Sikka Flores, NTT). Walaupun demikian, sintesis IAA pada isolat ini relatif rendah masing-masing 0,295 dan 0,643 μM pada hari ke-3 dan ke-6.

Isolat D3.2 (Banjar, Kalimantan) dan Sb 4 (Sumbawa, NTT) mensintesis IAA relatif tinggi, masing-masing 3,001 dan 3,574 μM . Walaupun demikian, isolat ini tidak mampu membantu perkecambahan benih *P. phaseoloides*. Kemungkinan perkecambahan benih tidak hanya dipengaruhi oleh IAA, tetapi juga adanya senyawa lain yang disintesis oleh *Azotobacter* sp. Menurut Rao (1982), *Azotobacter* sp. juga menghasilkan senyawa thiamin, riblovaflavin, pridoksin, sianokobalamin, nikotin, asam pentotenat, asam indol asetat, dan giberelin yang kemungkinan berperan dalam perkecambahan biji. Selain itu, *Azotobacter* sp. juga dikenal sebagai pengendali penyakit tanaman karena kemampuannya menghasilkan senyawa anti antibiotik, antifungi yang juga membantu perkecambahan benih (Shende *et al.*, 1977).

Pengaruh isolat *Azotobacter* sp. terhadap pertumbuhan bobot basah total sorgum menunjukkan variasi yang cukup besar (Tabel 2). Pada pot tanpa perlakuan (blanko), rata-rata total bobot basah ialah 22,08 g dan rata-rata bobot kering total 5,38 g. Sejumlah 21 isolat yang dijumpai menghasilkan bobot basah di atas blanko (total bobot basah). Pengamatan bobot kering menunjukkan bahwa 22 isolat menghasilkan bobot kering di atas bobot kering blanko.

Tabel 2. Pertumbuhan sorgum yang diinokulasi dengan beberapa isolat *Azotobacter* sp.

Sandi isolat	Asal isolat	Bobot basah pucuk (g)	Bobot basah akar (g)	Bobot basah total (g)	Bobot kering pucuk (g)	Bobot kering akar (g)	Bobot kering total (g)
D1/1 B	MuBa, Sumsel	12,09	1,412	13,5	2,23	0,27	2,5
D1/2	MuBa, Sumsel	29,67	5,82	35,49	15,71	2	17,71
D1/4B	MuBa, Sumsel	26,07	5,77	31,84	10,1	2,42	12,52
D1/5A	MuBa, Sumsel	24,57	7,22	31,79	6,83	1,69	8,53
D1/5B	MuBa, Sumsel	30,52	5,51	36,03	6,52	0,96	7,48
D1/6A	MuBa, Sumsel	12,93	3,13	16,06	2,53	0,76	3,29
D1/7A	MuBa, Sumsel	21,17	6,32	27,5	8,29	0,99	9,29
D1/7B	MuBa, Sumsel	18,56	4,81	23,37	5,93	1,52	7,45
D1/8A	MuBa, Sumsel	23,49	5,05	28,54	4,61	1,19	5,78
D1/8B	MuBa, Sumsel	18,54	4,92	23,46	5,05	1,49	6,54
Blok C5	MuBa, Sumsel	13,49	3,89	20,29	9,06	0,64	5,26
Blok C6	MuBa, Sumsel	22,34	9,16	31,5	4,88	1,35	6,22
P5	Banjar, Kalsel	19,34	9,68	29,02	7,78	2,1	9,88
P6	Banjar, Kalsel	23,66	2,76	26,41	4,33	0,6	4,94
S1	Banjar, Kalsel	0,13	0,02	0,14	0,02	0,003	0,02
S4	Banjar, Kalsel	18,34	4,17	22,51	7,8	1,59	8,75
S5	Banjar, Kalsel	25,49	4,86	30,35	9,93	1,01	10,94
S6	Banjar, Kalsel	26,19	4,49	30,63	9,16	5,9	15,05
S7	Banjar, Kalsel	14,52	3,37	17,9	4,37	0,54	4,91
D32	Banjar, Kalsel	18,14	3,09	21,23	3,42	0,47	3,89
E34	Banjar, Kalsel	14,75	3,26	18	3,04	0,52	3,56
Krt	Bogor, Jabar	15,21	2,5	17,7	4,84	0,72	5,56
Sb1	Sumbawa, NTT	1,14	0,31	10,41	0,4	0,08	0,48
Sb2	Sumbawa, NTT	25,84	6,28	15,33	5,08	0,88	5,96
Sb3	Sumbawa, NTT	12,53	2,8	15,33	3,02	0,49	3,51
Sb4	Sumbawa, NTT	23,08	3,75	26,83	4,43	0,59	5,02
100(1)	Kupang, NTT	17,34	3,8	21,15	3,37	0,6	3,97
100(2)	Kupang, NTT	17,16	2,99	20,15	5,27	0,52	5,79
101	Kupang, NTT	8,93	1,62	10,55	2,9	0,34	3,78
107	Manggarai dan Ngada, NTT	18,71	7,55	43,36	9,79	4,15	14,14
108	Manggarai dan Ngada, NTT	20,34	4,93	25,27	4,99	1,34	6,32
109	Manggarai dan Ngada, NTT	13,93	2,35	16,27	2,64	0,31	2,95
110	Manggarai dan Ngada, NTT	7,69	2,08	9,76	2,49	0,34	2,03
111(1)	Sikka Flores, NTT	26,34	5,4	31,74	6,93	1,43	8,36
111(2)	Sikka Flores, NTT	20,68	6,53	27,21	6,37	2,77	9,16
112	Sikka Flores, NTT	8,6	1,59	10,19	1,32	0,16	1,48
113	Sikka Flores, NTT	34,15	8,73	42,88	9,67	2,03	11,7
114	Sikka Flores, NTT	12,21	2,13	14,34	2,44	0,09	2,63
115	Sikka Flores, NTT	15,56	2,33	17,89	5,83	0,35	6,17
116(1)	Sikka Flores, NTT	15,03	3,33	18,36	3,74	0,49	4,24
116(2)	Sikka Flores, NTT	28,6	4,27	32,87	4,37	0,70	5,07
117	Sikka Flores, NTT	18,31	3,56	21,87	3,93	0,58	4,51
118	Sikka Flores, NTT	2,03	0,21	2,25	0,37	0,21	0,41
-	Pupuk NPK 100%	25,65	6,23	31,88	6,46	1,17	7,63
-	Blanko	19,55	2,53	22,08	4,89	0,49	5,38

Hasil seleksi berdasarkan kemampuan menghasilkan komponen bobot basah pucuk dan akar menunjukkan bahwa hanya terdapat delapan isolat yang unggul (di atas perlakuan pupuk NPK 100%). Kemampuan sintesis IAA kedelapan isolat tersebut bervariasi antara 0,362-3,99 μ M. Tampaknya variasi sintesis IAA delapan isolat tersebut cukup besar,

sehingga kemungkinan IAA dapat meningkatkan biomasa basah akar. Peningkatan perakaran ialah salah satu penanda adanya pengaruh bakteri pemacu pertumbuhan. Tingginya pemanjangan akar atau khususnya akar primer atau perbanyakkan akar lateral dan akar yang tumbuh bukan dari akar (pangkal batang atau stek) sangat menguntungkan,

khususnya bagi tanaman muda karena akar ini dapat meningkatkan serapan hara, air, dan merupakan pendukung tegaknya tanaman (Patten dan Glick, 2002). Berdasarkan bobot basah kedua komponen tersebut, yaitu pucuk dan akar, hanya dua isolat, yaitu Sb2 (0,362 μM) dan 113 (0,643 μM) yang menghasilkan bobot basah pucuk dan akar di atas perlakuan pupuk NPK 100%. Isolat SB 2 berasal dari Sumbawa (NTT), sedangkan isolat 113 berasal dari Sikka Flores. Tanaman sorgum yang diinokulasi lima isolat, yaitu D1/2, D1/5B, 107, 113, dan 116(2) menghasilkan bobot basah total di atas bobot basah total tanaman yang dipupuk NPK 100%.

Berdasarkan bobot kering pucuk sorgum terdapat 11 isolat yang dapat menghasilkan bobot kering di atas perlakuan pemupukan NPK 100%, sedangkan berdasarkan bobot kering akar terdapat 15 isolat menghasilkan bobot kering akar di atas perlakuan pemupukan NPK 100%. Berdasarkan bobot kering pucuk dan akar terdapat sembilan isolat (D1/2, D1/4B, D1/5A, P5, S4, S6, 107, 111(1), dan 113) yang menghasilkan bobot kering di atas bobot kering sorgum yang dipupuk NPK 100%. Biomasa kering total tanaman yang diinokulasi 12 isolat (D1/2, D1/4B, D1/5A, D1/7A, P5, S4, S5, S6, 107, 111(1), 111(2), dan 113) lebih tinggi dibandingkan dengan biomasa total kering tanaman yang dipupuk NPK 100%. Berdasarkan data biomasa total (basah dan kering) maka tanaman sorgum yang diinokulasi tiga isolat (D1/2, 107, dan 113) menghasilkan biomasa lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman yang dipupuk NPK 100%.

Dari hasil yang diperoleh selanjutnya dipilih isolat yang menghasilkan bobot basah dan kering tanaman, produksi IAA serta kemampuannya mengkecambahkan benih *P. phaseoloides* yang relatif tinggi. Hasil seleksi menunjukkan bahwa satu isolat, yaitu isolat D1/2 yang diisolasi dari Muba, Sumsel menunjukkan kemampuan menghasilkan IAA, meningkatkan perkecambahan benih serta meningkatkan biomasa sorgum relatif stabil dan tinggi. Berdasarkan kemampuan membantu perkecambahan benih, meningkatkan biomasa kering, bobot kering pucuk, dan akar atau keduanya terpilih isolat 113 (Sikka Flores, NTT). Walaupun demikian sintesis IAA pada isolat ini relatif rendah (0,295

dan 0,643 μM masing-masing pada hari ke-3 dan ke-6).

KESIMPULAN

Azotobacter sp. dapat dijumpai di perkebunan kelapa sawit, jambu mete, karet, dan pertanian rakyat. Isolat *Azotobacter* sp. memiliki kemampuan sintesis IAA yang berbeda, demikian pula kemampuannya dalam meningkatkan jumlah benih yang berkecambah dan pertumbuhan sorgum. Isolat yang potensial sebagai penghasil IAA ialah isolat 116(2) yang diisolasi dari Sikka (Flores, NTT). Isolat yang membantu perkecambahan benih, yaitu isolat D1/2, 107, dan 113 masing-masing berasal dari Muba (Sumsel), Manggarai dan Ngada, serta Sikka Flores. Isolat yang memiliki karakteristik penghasil IAA, membantu perkecambahan benih, dan meningkatkan pertumbuhan sorgum relatif tinggi ialah isolat D1/2 (Sumsel), sedangkan isolat 113 (Sikka, Flores) memiliki kemampuan meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Potensi isolat terseleksi perlu dikembangkan dengan mengkaji lebih lanjut kemampuannya dalam memfiksasi N dan melakukan formulasi pembuatan pupuk hayati dengan mikroba lain yang bersinergi dengan *Azotobacter* sp. Untuk mendapatkan informasi ekologi perlu dilakukan analisis komunitas mikroba, khususnya pada perakaran tanaman sebagai respon inokulasi *Azotobacter* sp.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., I. Ahmad, and M.S. Khan. 2005. Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk J. Biol.* 29:29-34.
- Emtiazi, G., Z. Ethemadifar, and M.H. Hibibi. 2004. Production of extra-cellluler polymer in *Azotobacter* and biosorption of metal by exopolymer. *African J. Biotechnology* 3:330-333.
- Patten, C.L. and B.R. Glick. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indol acetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:3795-3801.
- Rao, S. 1982. *Biofertilizer in Agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co. New Delhi.

- Sabra, A., P. Zeng, H. Lonsdorf, and W.D. Deckwer. 2000. Effect of oxygen on formation and structure of *Azotobacter vinelandii* alginate and its role in producing nitrogenase. *Appl. Environ. Microbiol* 66:4037-4044.
- Scheiner, J.D., F.H. Gutierrez-Boem, and R.S. Lavado. 2002. Sunflower nitrogen requirement and ¹⁵N fertilizer recovery in Western Pampas, Argentina. *Eur. J. Agron.* 17:73-79.
- Shende, S.T., R.G. Apte, and T. Singh. 1977. Influence of *Azotobacter* on germination of rice and cotton seeds. *Curr. Sci.* 46:675-679.
- Maslahat, M. dan Suharyanto. 2005. Produksi indole asetic acid (IAA) oleh bakteri yang diisolasi dari akar tanaman karet (*Hevea brasiliensis*). *Nusa Kimia J.* 5:26-35.
- Miller, A.J. and M.D. Cramer. 2004. Root nitrogen acquisition and assimilation. *Plant Soil* 274:1-36.