

Penapisan dan Karakterisasi Rhizobakteria serta Uji Aktivitasnya dalam Mendukung Perkecambahan dan Pertumbuhan Benih Jagung (*Zea mays* L.) (Screening and Characterization of Rhizobacteria and its Activities in Supporting Germination and Seedlings Growth of *Zea mays* L.)

Dwi Agustiyani

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi-LIPI
Jl. Raya Bogor-Jakarta Km. 46, Cibinong 16911. Email: Dwia001@lipi.go.id /titinagustin@yahoo.com

Memasukkan: September 2015, **Diterima:** Maret 2016

ABSTRACT

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) are a group of bacteria known to influence plant growth by direct or indirect mechanisms. In search of efficient PGPR which potential as biofertilizers, a total of 26 isolates of rhizobacteria were isolated from various plant rhizosphere. These 26 isolates were screened through in vitro methods for PGPR properties like phosphate solubilization, siderophore, IAA and ammonia production, and catalase activity. The result revealed that 9 isolates showed positive activities for phosphate solubilization 17 isolates for IAA production 18 isolates for siderophores 19 isolates for ammonia production and all of the isolates have catalase activities. Only four isolates (Az.KT.CSC, Az.D.8B, Az.D.8A and Az.Lo.10B) exhibited multiple plant growth promoting traits viz., phosphate solubilization, siderophore, IAA, ammonia production, and catalase activity. Ten isolates that have different characters were further investigated for quantitative analysis of IAA production, HCN production and its effect on germination and seedling growth of *Zea mays*. The range of IAA production was 3,12– 134,27 ppm, among ten isolates, Az.D.8B isolate produced the highest IAA (134,27 ppm). Production of HCN was detected in eight isolates. Four isolates positively affected the germination of *Zea mays* seeds. Highest root elongation was recorded when seeds were treated with Az.Lo.5 isolate. Whereas, the highest chlorophyll content and plant high were recorded when seeds were treated with Az.B.8B isolate.

Keywords: N-fixing bacteria, PGPR, IAA, siderophore, catalase

ABSTRAK

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) mampu memperbaiki pertumbuhan tanaman melalui mekanisme langsung maupun tidak langsung. Bertujuan memperoleh PGPR yang efisien dan berpotensi sebagai pupuk hayati, telah diisolasi 26 rhizobakteria dari berbagai perakaran tanaman. Dua puluh enam isolat bakteri tersebut kemudian dilakukan penapisan berdasarkan aktivitas yang dimiliki PGPR secara *in-vitro*, yang meliputi pelarutan fosfat, siderofor, IAA dan produksi amonia serta aktivitas katalase. Hasil pengujian menunjukkan 9 isolat memiliki aktivitas melarutkan fosfat 17 isolat menghasilkan IAA 18 isolat menghasilkan siderofor 19 isolat mampu menghasilkan amonia dan semua isolat secara kualitatif memperlihatkan aktivitas katalase. Hanya empat isolat bakteri (Az.KT.CSC, Az.D.8B, Az.D.8A dan Az.Lo.10B) yang memiliki multi aktivitas, yaitu pelarut fosfat, produksi siderofor, IAA, dan amonia serta katalase. Sepuluh isolat bakteri yang memiliki karakter yang berbeda dipilih untuk diuji lebih lanjut kemampuan produksi IAA secara kuantitatif, produksi HCN serta kemampuannya dalam mendukung perkecambahan dan pertumbuhan benih Jagung. Produksi IAA berkisar dari 3,12 – 134,27 ppm, aktivitas tertinggi dicapai oleh isolat Az.D.8B (134,27 ppm). Ada 9 isolat bakteri yang mampu memproduksi HCN. Empat isolat bakteri (Az.Ed, Az.Pd.Bd, Az.D.2, Az.Lo.10B) berpengaruh positif terhadap perkecambahan biji jagung. Panjang akar tertinggi dicapai oleh benih yang diberi perlakuan isolat Az.Lo.5. Sedangkan kandungan klorofil dan tinggi tanaman terdeteksi pada benih yang diberi perlakuan isolat Az.D.8B.

Kata Kunci : bakteri penambat N, PGPR, IAA, siderofor, katalase

PENDAHULUAN

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah rhizobakteria yang berpengaruh meningkatkan pertumbuhan tanaman inangnya melalui mekanisme secara langsung maupun tidak langsung (Juanda 2005). PGPR mendukung pertumbuhan tanaman secara langsung melalui mekanisme penambatan nitrogen dari atmosfer, pelarutan mineral pospat, produksi siderofor, dan sintesa hormon pertumbuhan seperti, IAA, asam giberelik, sitokinin dan etilen (Nelson 2004). Sedangkan mekanisme yang tidak

langsung adalah biokontrol patogen tanaman, yaitu perusakan mikroba patogen melalui produksi antibiotik, enzim litik, hidrogen sianida, katalase dan siderofor atau melalui kompetisi nutrisi maupun ruang. Melalui dua mekanisme tersebut PGPR dapat meningkatkan kesehatan tanaman secara signifikan dan mendukung pertumbuhan tanaman (Khan 2006).

PGPR dapat mengubah RSA (*Root System Architecture*) dan struktur jaringan akar terutama berpengaruh pada keseimbangan hormonal tanaman (Dodd *et al.* 2010; Overvoorde *et al.* 2011). Selain itu, PGPR juga dapat mengubah fisiologi dan fungsi

jaringan tanaman. PGPR mampu secara langsung menyuplai nutrisi pada perakaran dan/atau menstimulasi sistem transport ion di akar. Pelarutan fosfat merupakan satu efek kunci dari PGPR pada nutrisi tanaman. Tanah pada umumnya mengandung banyak fosfor, namun hanya sedikit yang tersedia bagi tanaman. Tanaman hanya mampu menyerap mono atau dibasik fosfat, organik fosfat atau bentuk fosfat yang tidak terlarut harus dimineralisasi atau dilarutkan oleh mikroorganisma (Ramaekers *et al.* 2010). PGPR juga dapat membantu menggantikan pupuk nitrogen dengan menambat N₂ dan memproduksi hormon tumbuh (Ahmad *et al.* 2008).

Genus *Azotobacter* pada umumnya adalah bakteri penambat N₂ yang banyak ditemukan di tanah pertanian dan mempunyai berbagai peran menguntungkan dengan menghasilkan vitamin, asam amino, siderofor dan auksin (Aquilanti *et al.* 2004; Sharma *et al.* 2009). *Azotobacter* memproduksi *indole acetic acid* (IAA), *gibberlic acid* (GA) yang merupakan hormon tumbuh yang penting dan hormon tersebut akan membantu dalam perkecambah dan pertumbuhan (Asma *et al.* 2012). *Azotobacter* mampu menambat N setidaknya 10 mg N/gram karbohidrat. Gonzalez-lopess *et al.* (1991) mengemukakan bahwa penambatan N, produksi fitohormon dan peningkatan penyerapan nutrisi dalam tanah merupakan penyebab meningkatnya hasil panen jagung yang diinokulasi dengan *Azotobacter*. Monib *et al.* (1979) mengindikasikan bahwa inokulasi tanaman barley (*Hordeum vulgare*) dengan azotobacterin menyebabkan peningkatan pertumbuhan, tinggi tanaman dan bobot kering, serta kandungan nitrogen pada pasir dan pada tanah. Mishustin & Shilnikova (1969), mengemukakan bahwa *Azotobacter* juga dapat memproduksi antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Rhizoctonia solani*.

Distribusi *Azotobacter* secara ekologi cukup kompleks, berhubungan dengan berbagai faktor, sifat tanah dan kondisi cuaca merupakan dua faktor yang mempengaruhi distribusi mikroorganisma ini. (Brenner *et al.* 2005). Sifat tanah yang mempengaruhi distribusi bakteri ini meliputi, kandungan material organik, kelembaban, rasio C/N dan pH (Gonzalez-lopess *et al.* 1991).

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh rhizobakteria endogenus yang berpotensi sebagai agen pupuk hayati. Bakteri ini diisolasi dari berbagai tanaman (kedelai, edamame, padi, kacang tanah,

kentang, jagung, carica papaya, bawang putih, kobis, cabai) dan dari berbagai daerah di Indonesia dengan menggunakan media Ashby, media spesifik untuk isolasi bakteri *Azotobacter*. Terhadap isolat bakteri yang diperoleh dilakukan penapisan dan karakterisasi aktivitasnya sebagai PGPR dalam mendukung perkecambah dan pertumbuhan benih jagung (*Zea mays* L.).

BAHAN DAN CARA KERJA

Isolasi rhizobakteria dilakukan dengan cara sebagai berikut: 10 g akar tanaman beserta tanah yang menempel dimasukkan dalam 250 ml Erlenmeyer yang berisi 100 ml media Ashby cair. Kultur ini kemudian di inkubasi pada suhu kamar selama 2-3 hari, hingga muncul koloni bakteri dipermukaan yaitu dengan terbentuknya lapisan kental berwarna putih hingga kecoklatan. Koloni bakteri kemudian dipindahkan pada media cawan Petri yang berisi media Ashby padat (media spesifik untuk *Azotobacter*). Koloni yang tumbuh selanjutnya dimurnikan hingga diperoleh isolat murni.

Media selektif yang digunakan untuk produksi siderofor adalah *Chrome Azurol Sulfate* (Schwyn & Neilands 1978). Isolat bakteri yang akan diuji diinokulasikan pada cawan Petri yang berisi media CAS agar. Terbentuknya zona berwarna oranye di sekeliling koloni bakteri mengindikasikan terbentuknya siderofor.

Uji aktivitas pelarutan fosfat dilakukan mengikuti metoda yang digunakan oleh Gupta *et al.* 1994. Isolat mikroba yang akan diuji diinokulasikan pada bagian tengah pada cawan Petri yang telah berisi media Pikovskaya (PVK), diinkubasi pada suhu 30⁰C selama 24-120 jam. Koloni yang menghasilkan zona bening mengindikasikan kemampuannya melarutkan fosfat (positif).

Isolat mikroba yang akan diuji mula-mula ditumbuhkan pada media Tryptic Soy Broth (TSB). Koloni yang tumbuh kemudian ditetesi larutan Salkowsky kira-kira sebanyak 1 ml. Terjadinya perubahan warna pink pada koloni mengindikasikan isolat mikroba tersebut mampu menghasilkan IAA (positif).

Metoda kolorimetri yang digunakan mengikuti metode Aunton & Tweddel (2007). Media yang digunakan untuk analisa adalah TSB 50% (*half strength*), dengan komposisi: Pepton 10 g/l, NaCl 2.5 g/l, Agar 20 g/l, dan akuades 1000 ml. Kedalam

media TSB steril ditambahkan precursor L-Tryptophan 200 ppm. Sebelum analisa dilakukan terlebih dulu dibuat kurva standard dari 0-50 ppm IAA. Dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm.

Sifat lain yang penting dari PGPR adalah kemampuan produksi amonia, yang secara tidak langsung mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui aktivitas biokontrol. Kemampuan produksi amonia diuji menggunakan metoda yang dikemukakan oleh Cappuccino & Sherman (1992). Isolat bakteri dalam medium NB (Nutrient Broth) yang telah diinkubasi selama 48 jam dan blanko ditambahkan 1,25 ml reagen Nessler. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna medium yang berisi isolat bakteri menjadi oranye kecoklatan.

Produksi HCN salah satu sifat PGPR yang penting, senyawa ini mempunyai aktivitas biokontrol dan mampu menekan jamur patogen pada akar tanaman. Penapisan isolat bakteri dalam memproduksi HCN dilakukan berdasarkan metoda yang dikemukakan oleh Castric (1975). Kandungan klorofil pada daun diukur menggunakan Chlorophyll Meter, SPAD-502. Plus. Kandungan klorofil dihitung berdasarkan rumusan sbb. :

Klorofil=(99 SPAD)/(144-SPAD) (Zoran *et al.* 2012)

HASIL

Isolasi dan uji aktivitas bakteri

Dua puluh enam (26) isolat bakteri perakaran (PGPR) berhasil diisolasi dari berbagai perakaran tanaman. Sembilan (9) isolat bakteri memiliki aktivitas melarutkan fosfat, namun aktivitasnya sangat rendah diindikasikan dengan terbentuknya zona bening yang sangat kecil (≤ 1 mm). Satu isolat yang memperlihatkan zona bening cukup besar adalah Az.Lo.11C. Tujuh belas (17) isolat terindikasi menghasilkan hormon tumbuh IAA. IAA merupakan fitohormon yang sangat penting yang berfungsi sebagai pengatur perkembangan tanaman. Sembilan belas (19) isolat mampu menghasilkan amonia, 6 isolat (Az.Ed, Az.Kt.CSC, Az.D2, Az.D.8A, Az.Lo.10B dan Az.Lo.11C) memperlihatkan aktivitas produksi amonia yang cukup tinggi. Kemampuan produksi amonia adalah salah satu sifat penting dari PGPR, yang secara tidak langsung mempengaruhi pertumbuhan tanaman melalui aktivitas biokontrol. *Azotobacter* merupakan kelompok bakteri yang mampu memproduksi amonia, seperti hasil penelitian

yang dilaporkan oleh Joseph *et al.* (2007) yang mengemukakan bahwa tingkat kemampuan produksi amonia paling tinggi pada isolat *Bacillus* (95 %), diikuti *Pseudomonas* (94,2 %), *Rhizobium* (74,2 %) dan *Azotobacter* (45 %). Semua isolat bakteri memperlihatkan aktivitas katalase, yang merupakan salah satu karakter dari bakteri *Azotobacter*. Isolat bakteri yang mempunyai aktivitas katalase akan mampu bertahan pada kondisi stres lingkungan, kimia maupun mekanik (Joseph *et al.* 2007).

Pada penelitian ini terdeteksi 18 isolat rhizobakteria yang menghasilkan siderofor, empat isolat (Az.Kt.CSC, Az.Lo.10B, Az.Lo.11C dan Az.D.K3) mampu membentuk zona berwarna oranye dengan diameter >3 cm. Produksi siderofor dari keempat isolat bakteri ini lebih tinggi jika dibandingkan dengan hasil penelitian Kaur & Sharma (2013) pada isolat *Pseudomonas* sp yang paling tinggi hanya mencapai diameter 2,2 cm. Siderofor kemungkinan akan menstimulasi biosintesis senyawa antimikroba dengan cara meningkatkan ketersediaan mineral Fe untuk bakteri (Sayyed *et al.* 2005), sehingga berperan penting pada sistem ketahanan tanaman inang. Kemampuan bakteri rhizosfer memproduksi siderofor tidak hanya meningkatkan kemampuan bakteri mengkolonisasi akar, tetapi juga berperan penting dalam nutrisi Fe oleh tanaman (Vansuyt *et al.* 2007) dan antagonisme terhadap patogen tanaman (Chincholkar *et al.* 2007).

Sepuluh isolat bakteri yang memiliki aktivitas yang berbeda dipilih dan kemudian diuji aktivitas produksi IAA secara kuantitatif dan produksi HCN secara kualitatif. Hasil pengujian menunjukkan bahwa 3 isolat mampu memproduksi IAA sekitar 30 ppm, yaitu isolat Az.Ed (36,46 ppm), Az.Pd.Bd (37,12 ppm) dan Az.Lo.10A (33,69) dan satu isolat mampu memproduksi IAA cukup tinggi (134,27 ppm) yaitu isolat Az.D.8B (Tabel 2). Hasil ini selaras dengan hasil penelitian Joseph *et al.* (2007) yang menunjukkan bahwa produksi IAA tinggi terdeteksi pada isolat bakteri *Bacillus*, *Pseudomonas* dan *Azotobacter* (100%) diikuti oleh *Rhizobium* (85,7 %). Kemampuan produksi IAA oleh PGPR bervariasi diantara spesies atau strain yang berbeda, dan dipengaruhi oleh kondisi kultur, tahapan pertumbuhan dan ketersediaan substrat (Mirza *et al.* 2001; Ashrafuzzaman *et al.* 2009). Sedangkan produksi HCN terdeteksi pada 8 isolat, 3 isolat (Az.Ed, Az.Pd.Bd dan Az.Lo.11C) memperlihatkan produksi HCN yang relatif lebih tinggi. PGPR yang mampu

memproduksi HCN relatif sedikit, seperti dilaporkan oleh Siddiqui & Shakeel (2009) dari 21 isolat *Pseudomonas* sp. yang diteliti hanya 3 isolat yang berpotensi memproduksi HCN.

Perkecambahan dan pertumbuhan benih jagung

Hasil pengujian pengaruh pemberian isolat bakteri terhadap perkecambahan biji jagung menunjukkan bahwa hanya 4 isolat bakteri (Az.Ed, Az.Pd.Bd, Az.D.2 dan Az.Lo.10B) yang mampu mencapai 100% perkecambahan, sedangkan yang lain berkisar dari 90-92%. Persentase perkecambahan paling rendah terjadi pada biji yang diberi perlakuan isolat Az.Lo.11C, hanya mencapai 50%, benih jagung ini tidak dilakukan pemantauan lebih lanjut.

Pengaruh pemberian isolat rhizobakteria terhadap pertumbuhan benih jagung secara umum positif meningkatkan pertumbuhan benih tanaman. Hasil perhitungan statistik menunjukkan bahwa beberapa perlakuan pemberian bakteri berpengaruh signifikan terhadap tinggi tanaman, panjang akar dan kandungan klorofil, namun tidak berpengaruh nyata terhadap berat basah total tanaman. Tinggi tanaman dan kandungan klorofil tertinggi terdeteksi pada benih yang diberi perlakuan isolat bakteri Az.D.8B (Tabel 3). Kandungan klorofil pada daun jagung terdeteksi relatif tinggi pada perlakuan Az.KT.CSC, Az.D.8B dan Az.Lo.5. Pemberian isolat bakteri perakaran tidak berpengaruh nyata terhadap berat basah total tanaman, namun beberapa isolat bakteri menghasilkan berat tanaman yang lebih tinggi dibandingkan kontrol dan berat tanaman tertinggi dicapai oleh benih yang diberi perlakuan isolat bakteri Az.Lo.10B. Berat tanaman yang cukup tinggi lainnya adalah Az.Lo.5 dan Az.Lo.11B. Sedangkan isolat bakteri yang berpengaruh nyata pada panjang akar adalah isolat Az.Lo.5 (Tabel 3)

Populasi bakteri pada perakaran

Populasi bakteri pada akar tanaman setelah tanaman berumur 15 hari dihitung menggunakan metoda hitungan cawan pada media spesifik Ashby. Hasil perhitungan bakteri pada masing-masing perakaran yang diberi perlakuan 9 jenis bakteri yang berbeda bervariasi dari 4,2–15,6 x 10⁷CFU/g akar. Populasi bakteri tertinggi terdeteksi pada akar yang diperlakukan dengan isolat bakteri Az.Lo.10A, kemudian diikuti oleh Az.Ed., Az.KT.CSC, Az.Lo.5, Az.D8B, Az.D2, Az.Lo.11B dan Az.Lo.10B. Secara umum populasi bakteri di perakaran cukup tinggi

(10⁶-10⁷), ini mengindikasikan bahwa bakteri (inokulan) yang diujikan pada benih jagung dapat beradaptasi dan dapat tumbuh dengan baik di perakaran.

PEMBAHASAN

Hasil pengujian pengaruh pemberian isolat bakteri secara umum meningkatkan perkecambahan sekitar 2-10% dibanding kontrol, dan hanya 4 isolat bakteri (Az.Ed, Az.Pd.Bd, Az.D.2, Az.Lo.10B) yang mampu menunjang perkecambahan benih jagung hingga 100%. Hasil ini selaras dengan hasil penelitian Sayyed *et al.* (2005) bahwa inokulasi PGPR *P. Fluorescens* NCIM 5096 hanya meningkatkan 10% perkecambahan dibandingkan kontrol. Keempat isolat bakteri tersebut teridentifikasi kemampuannya menghasilkan amonia relatif tinggi (Tabel 1), dan menghasilkan HCN (Tabel 2), hal itu kemungkinan berpengaruh terhadap perkecambahan biji jagung. Seperti dilaporkan Selvakumar *et al.* (2009) bahwa *Pseudomonas fragi* CS11RH1 yang mampu memproduksi HCN, secara signifikan meningkatkan persentase perkecambahan, biomasa tanaman dan pengambilan nutrisi dari benih gandum (*wheat*).

Hasil pengujian aktivitas PGPR menunjukkan bahwa isolat bakteri Az.D.8B dan Az.Lo.10B memiliki semua aktivitas yang diujikan (multi aktivitas), isolat Az.D.8B juga mampu memproduksi IAA cukup tinggi (Tabel 1 dan 2). Hasil uji pertumbuhan benih jagung ditunjukkan bahwa tinggi tanaman dan kandungan klorofil tertinggi dicapai oleh benih tanaman yang diberi perlakuan isolat Az.D.8B, dan nilai yang dicapai berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 3, Gambar 1). Data tersebut di atas memperlihatkan adanya korelasi positif antara aktivitas isolat bakteri penghasil IAA dengan kualitas pertumbuhan benih jagung. Dilaporkan bahwa *Indole-3-acetic acid* (IAA) merupakan auxin yang terbaik yang dihasilkan oleh bakteri yang berasosiasi dengan tanaman, termasuk PGPR (Spaepen *et al.* 2007a). Hasil serupa dikemukakan oleh Bashan (1990), yang melaporkan bahwa dengan meningkatnya konsentrasi IAA, secara langsung merangsang/meningkatkan kandungan klorofil dalam *Anabaena* sp. Namun demikian fenomena yang berbeda terlihat pada data bobot tanaman, bobot tanaman tertinggi dicapai oleh perlakuan bakteri Az.Lo.10B dan panjang akar tertinggi dicapai oleh perlakuan isolat

Tabel 1. Hasil uji aktivitas produksi IAA, amonia, siderofor, pelarutan fosfat dan aktivitas katalase dari 26 isolat rhizobakteria

No.	Nama Isolat	Pelarut fosfat	IAA	Produksi amonia	Produksi Siderofor (cm)	Katalase
1	Az.Ed.	-	+	++++	-	+++
2	Az.Pd.bn	+	-	-	+(1,1)	+
3	Az.Pd.pt.	+	-	-	+(0,8)	+
4	Az.Kt.CSC	+	+	++++	+(3,1)	++
5	<u>Az.Pd.Bd.</u>	-	+	++	+(2,2)	++
6	Az.D1	-	+	-	+(1,3)	+
7	Az.D2	-	-	+++	+(3,1)	+
8	Az.D3	+	-	+	+(1,5)	+
9	Az.D5	-	-	+	+(1,2)	+
10	Az.D6	+	+	+	+(1,1)	+
11	Az.D7	-	+	-	+(0,5)	+
12	Az.D8A	+	+	+++	+(1,8)	+++
13	Az.D8B	+	+	+	+(1,6)	+
14	Az.D9	-	-	+	+(1,8)	+
15	Az.D10	-	+	+	+(1,0)	+
16	Az.Lo.1A	-	+	-	+(0,9)	+
17	Az.Lo.2B	-	-	-	-	+
18	Az.Lo.5	-	+	++	-	+++
19	Az.Lo.8	-	+	+	-	+
20	Az.Lo.10A	-	+	++	-	+
21	Az.Lo.10B	+	+	+++	+(3,0)	++
22	Az.Lo.11B	-	-	+	-	+
23	Az.Lo.11C	+	-	+++	+(3,9)	++
24	Az.Lo.13B	-	+	+	+(2,0)	+
25	Az.Lo.14A	-	+	+	-	+
26	Az.Lo.14C	-	+	-	-	+

*Tanda (+) menunjukkan terbentuknya zona bening (aktivitas pelarutan fosfat), terbentuknya warna pink (aktivitas produksi IAA), terbentuknya warna kuning kecoklatan (aktivitas produksi amonia), terbentuknya zona oranye (aktivitas siderofor) dengan ukuran diameter zona (cm) dan terbentuknya gelembung gas (aktivitas katalase)

Tabel 2. Hasil uji aktivitas produksi HCN dan produksi IAA dari 10 isolat rhizobakteria

No.	Nama isolat	Produksi HCN	Produksi IAA (ppm)			
			0 jam	24 jam	48 jam	72 jam
1	Az.Ed	++	0,69	12,76	36,46	22,13
2	Az.Kt.CSC	-	1,52	9,25	6,98	6,54
3	Az.Pd.Bd	++	0,39	8,56	37,12	21,23
4	Az.D.2	+	-	-	-	-
5	Az.D.JB.B (D.8.B)	+	0,98	55,33	115,29	134,27
6	Az.Lo.5	+	0,00	1,98	2,34	3,12
7	Az.Lo.10A	+	0,44	21,94	33,69	30,27
8	Az.Lo.10B	+	0,00	2,51	3,38	5,38
9	Az.Lo.11B	-	-	-	-	-
10	Az.Lo.11C	++	-	-	-	-

*Tanda (+) menunjukkan terbentuknya warna coklat yang mengindikasikan adanya aktivitas produksi HCN dan jumlah + menggambarkan tingkat kepekatan warna, sedangkan (-) tidak ada aktivitas

bakteri Az.Lo.5 (Tabel 3, Gambar 1), dimana kedua isolat bakteri tersebut mempunyai kemampuan memproduksi IAA yang relatif rendah (Tabel 2). Diketahui bahwa IAA mampu mengontrol berbagai proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman, namun demikian pengaruhnya ditentukan pula oleh konsentrasinya. Konsentrasi IAA rendah dapat merangsang perpanjangan akar primer, sedangkan konsentrasi IAA tinggi merangsang pembentukan akar lateral, mengurangi panjang akar primer, dan meningkatkan pembentukan akar rambut (Perrig *et al.* 2007; Remans *et al.* 2008).

Berbagai data aktivitas yang diperoleh jika dihubungkan dengan data pertumbuhan benih tanaman ada kecenderungan bahwa isolat yang mempunyai multi aktivitas (Az.D.8B dan Az.Lo.10B) secara umum menghasilkan pertumbuhan dan kandungan klorofil yang relatif lebih tinggi dibandingkan dengan isolat bakteri lainnya dan kontrol. Seperti dilaporkan bahwa

mekanisme PGPR dalam mendukung pertumbuhan tanaman masih belum diketahui secara pasti, walaupun demikian sejumlah mekanisme seperti produksi hormon pertumbuhan tanaman, aktivasi pelarutan pospat dan kemampuannya membantu penyerapan nutrisi dipercaya terlibat dalam mendukung pertumbuhan tanaman (Glick 1995; Lalande *et al.* 1989).

Data populasi bakteri pada akar tanaman menunjukkan bahwa semua isolat bakteri yang diujikan mampu beradaptasi dan mengkolonisasi akar tanaman jagung, diindikasikan dengan populasinya yang relatif tinggi di akar, berkisar dari $4,2-15,6 \times 10^7$ CFU/g akar (Gambar 2). Hasil survey di lapangan menunjukkan bahwa populasi bakteri *Azotobacter* bervariasi, berkisar dari $10-10^5$ /g di tanah, tergantung pada kondisi tanah. Pada umumnya pada tanah tropik populasinya lebih tinggi, dikarenakan suhunya yang relatif tinggi dan kandungan material organik yang relatif rendah

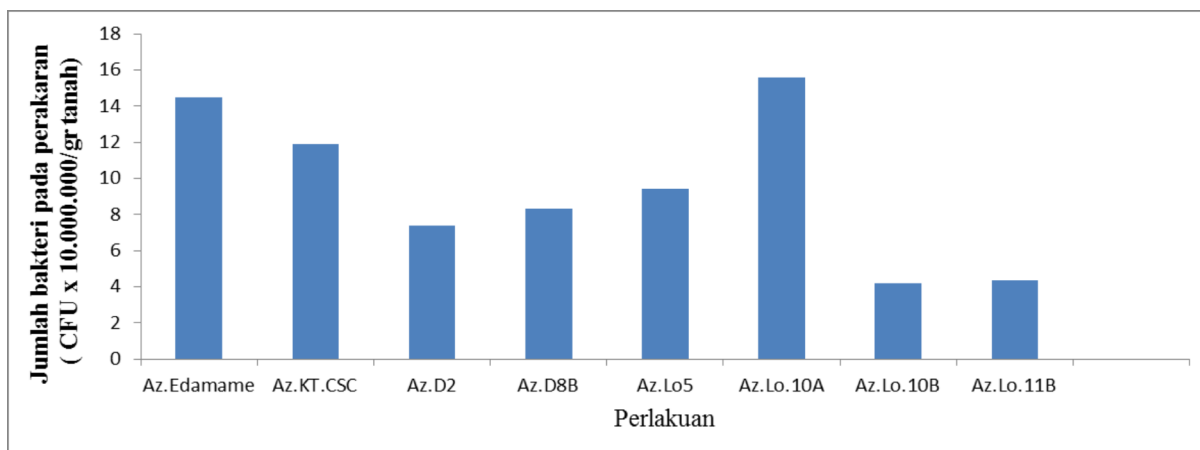
Tabel 3. Hasil uji perkecambahan dan pertumbuhan benih jagung

Nama Isolat	Perkecambahan (%)	Klorofil ($\mu\text{g cm}^{-2}$)	Tinggi tanaman (cm)	Berat tanaman (gr)	Panjang akar (cm)
Az.Ed.	100	22,2 b	36,6 b	1,71 a	10,9 a
Az.Kt.CSC	92	24,0 bc	35,6 b	1,84 a	11,3 a
Az.Pd.Bd.	100	21,8 b	38,0 b	1,83 a	10,8 a
Az.D.2	100	22,4 b	37,2 b	1,95 a	10,8 a
Az.D.JB.B (D.8.B)	92	26,0 c	38,3 b	1,88 a	10,2 a
Az.Lo.5	92	24,5 bc	34,5 b	1,99 a	15,7 b
Az.Lo.10A	92	22,8 bc	36,2 b	1,72 a	11,2 a
Az.Lo.10B	100	22,2 b	37,0 b	2,02 a	12,1 ab
Az.Lo.11B	92	22,2 b	37,9 b	1,99 a	12,5 ab
Kontrol	90	17,9 a	27,9 a	1,61 a	10,1 a

*Angka dengan huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan beda nyata dengan uji Duncan ($\alpha = 0.05$).



Gambar 1. Foto tanaman dan akar benih jagung umur 15 hari yang diberi perlakuan isolat rhizobakteria



Gambar 2. Populasi bakteri pada perakaran benih jagung dari masing-masing perlakuan

(Iswaran & Rao 1966). Salah satu syarat keberhasilan inoculan mikroba adalah kemampuannya beradaptasi dan mengkolonisasi akar tanaman inangnya. Jika semua isolat yang digunakan mampu mengkolonisasi akar, maka perbedaan pengaruh pada tanaman lebih disebabkan oleh aktivitas pendukung pertumbuhan yang dimiliki oleh isolat bakterinya.

KESIMPULAN

Hasil penelitian awal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri yang diisolasi dari berbagai perakaran tanaman memiliki aktivitas pendukung pertumbuhan yang bervariasi. Ada korelasi yang signifikan antara tingginya produksi IAA dari suatu isolat rhizobakteria (Az.D.8B) dengan tingkat kandungan klorofil pada daun jagung. Isolat bakteri yang memiliki multi aktivitas, dalam hal ini pelarutan fosfat, produksi IAA, amonia, siderofor, HCN dan katalase memperlihatkan kecenderungan mampu meningkatkan pertumbuhan benih jagung. Kedua isolat bakteri perakaran (Az.D.8B dan Az.Lo.10B) yang memiliki multi aktivitas ini berpotensi sebagai kandidat agen pupuk hayati.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dilakukan atas dana DIPA Tematik Puslit Biologi-LIPI tahun anggaran 2015. Ucapan terima kasih untuk teknisi dan laboran yang membantu dalam analisa aktivitas PGPR.

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad, F., I Ahmad & MS. Khan. 2008. Screening

of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiology Research*. 168:173-181.

Aquilanti, L., F. Favilli & F. Clementi. 2004. Comparison of different strategies for isolation and preliminary identification of *Azotobacter* from soil samples. *Soil Biology and Biochemistry*. 36:1475-1483.

Ashrafuzzaman, M., FA. Hossen, MR. Ismail, Md A. Hoque, MZ. Islam, SM. Shahidullah & S. Moon. 2009. Efficiency of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) for the enhancement of rice growth. *African Journal Biotechnology*. 8:1247-1252.

Asma, MT., RB. Pallavi, GC. Sonal, SG. Jai & DR. Prakash. 2012. Effect of endosulfan on indole acid and gibberlin secretion by *Azospirillum* spp NCIM-2548 and *Azotobacter* spp NCIM-2452. *International Resesarch Journal of Environmental Science*. 1(3):1-4.

Bashan, Y. 1990. Short exposure to *A. brasilensis* Cd inoculation enhanced proton efflux of intact wheat root. *Canadian Journal of Microbiology*. 36: 419-425.

Brenner, DJ., RN. Krieg & JT. Staley. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* 1st ed. Michigan State University publishers. 384-402.

Cappuccino, JG. & N. Sherman. 1992. Biochemical activities of microorganisms. Dalam: *Microbiology, A Laboratory Manual*. The Benjamin/Cummings Publishing Co. California, USA.

Castric, PA. 1975. Hydrogen cyanide, a secondary metabolite of *Psuedomonas aeruginosa*.

- Canadian Journal of Microbiology*. 21:613-618.
- Chincholkar, SB., BL. Chaudhari, MR. Rane & PD. Sarode. 2007. Fungi phytopathogen suppression using siderophoregenic bio-inoculants. In: Chinkolar, S.B. & K.G. Mukerji (eds.). *Biological Control Of Plant Diseases: Current Concepts*. Haworth Press, USA. 401-417.
- Dodd, IC., NY. Zinovkina, VI. Safronova & AA. Belimov. 2010. Rhizobacterial mediation of plant hormone status. *Annals of Applied Biology*. 157: 361-379.
- Glick, B. 1995. The enhancement of plant growth by free living bacteria. *Canadian Journal of Microbiology*. 41:109-117.
- Gonzalez-lopes, M., V. Martinez-Toledo, S. Reina & V. Salmeron. 1991. Root exudates of maize on production of auxines, gibberellins, cytokinins, amino acids and vitamins by *Azotobacter chroococcum* chemically defined media and dialysed soil media. *Toxicology and Environmental Chemistry*. 33:69-78.
- Gupta, RS., S. Rekha, Aparna & RC. Kuhad. 1994. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *Journal of General and Applied Microbiology*. 40:255-260.
- Joseph, B., RR. Patra & R. Lawrence. 2007. Characterization of plant growth promoting rhizobacteria associated with chickpea (*Cicer arietinum* L.). *International Journal of Plant Production*. 2:141-152.
- Juanda, JIH. 2005. Screening of soil bacteria for Plant Growth Promoting Activities in Vitro. *Journal of Agricultural Science*. 4:27-31.
- Kaur, N. & P. Sharma. 2013. Screening and characterization of native *Pseudomonas* sp. as plant growth promoting rhizobacteria in chickpea (*Cicer arietinum* L.) rhizosphere. *African Journal of Microbiology Research*. 7 (16):1465-1474.
- Lalande, R., N. Bissonnette, D. Coutlée & H. Antoun. 1989. Identification of rhizobacteria from maize and determination of their plant-growth promoting potential. *Plant Soil*. 115: 7-11.
- Mirza, MS., W. Ahmad, F Latif, J. Hurat, R. Bally, P. Normand & KA. Malik. 2001. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth-promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant Soil*. 237:47-54.
- Monib, M., Y. Abd-El-Malek, I. Hosny & M. Fayed. 1979. Seed inoculation with *Azotobacter chroococcum* in sand cultures and its effect on nitrogen balance. *Zentralblatt für Mikrobiologie*. 134:243-248.
- Overvoorde, P., H. Fukaki & T. Beeckman. 2011. Auxin control of root development. *Cold Spring Harbor Perspective in Biology*. 2 1537-1542.
- Perrig, D., ML. Boiero, OA. Masciarelli, C. Penna, EA. Ruiz & FD. Cassan. 2007. Plant-growth promoting compounds produced by two agronomically important strains of *Azospirillum brasilense* and implications for inoculant formulation. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75: 1143-1150.
- Ramaekers, L., R. Remans, IM. Rao, MW. Blair & J. Vanderleyden. 2010. Strategies for improving phosphorus acquisition efficiency of crop plants. *Field Crops Research*. 117: 167-176.
- Remans, R., S. Beebe, M. Blair, G. Maurique, E. Tovar & IM. Rao. 2008. Physiological and genetic analysis of root responsiveness to auxin-producing plant growth-promoting bacteria in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Plant Soil*. 302: 149-161.
- Sayyed, R., MD. Badgajar, HM. Sonawane, MM. Mhaske, & SB. Chincholkar. 2005. Production of microbial iron chelators (siderophores) by fluorescent pseudomonads. *Indian Journal of Biotechnology*. 4:484-490.
- Selvakumar, G., P. Josh, S. Nazim, PK. Mishra, JK. Bisht & HS. Gupta. 2009. Phosphate solubilization and growth promotion by *Pseudomonas fragi* CS11RH1(MTCC8984), a psychotolerant bacterium isolated from a high altitude Himalayan rhizosphere. *Journal of Biology*. 64: 239-245.
- Sharma, SD., P. Kumar, H. Raj & S. Bhardwaj. 2009. Isolation of arbuscular mycorrhizal fungi and *Azotobacter chroococcum* from local litchi orchards and evaluation of their activity in the air layers system. *Scientia Horticulturae*. 6: 117-123.
- Vansuyt, G., A. Robin, JF. Briat, C. Curie C & P. Lemanceau. 2007. Iron acquisition from Fepyovertine by *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant Microbe Interactions*. 20: 441-4417.