

# Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan *Azospirillum* sp. terhadap Perkembangan Akar Padi

Puji Lestari, Dwi N. Susilowati, dan Eny I. Riyanti

Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Jl. Tentara Pelajar 3A, Bogor 16111

## ABSTRACT

**Effect of Indole Acetic Acid Produced by *Azospirillum* sp. on Rice Root Growth Development. Puji Lestari, Dwi N. Susilowati, and Eny I. Riyanti.** Free-living bacteria of the genus *Azospirillum* live in close association with rice roots. This bacteria produced indole acetic acid (IAA), a plant growth hormone, to the environment. IAA was isolated from cultures of *Azospirillum* strains and investigated for its effect on root development and plant height of rice variety IR64 *in vitro*. Rice cultures of variety IR64 were grown *in vitro* and inoculated with cultures of *Azospirillum*. Production of IAA by the bacterium during its growth period in rice culture medium containing different levels of nitrogen was observed. Results of the experiment showed that strains *Azospirillum* Az15 and Az44 had a high ability to produce IAA, i.e., 57.93 µg/ml at 12 days after incubation (DAI) and 40.42 µg/ml at 7 DAI, respectively. The IAA production pattern of *Azospirillum* Az15 and Az44 in the liquid medium were fluctuative until the end of the incubation period, while that of the strain Az7 was linier. Strain Az7 gave a better effect on the root development and plant height than strains Az15 and Az44. Treatment combination of strain Az7 and 100% nitrogen gave highest root development. High level of nitrogen increased IAA content in the uninoculated culture, while low IAA content on the inoculated one. Inoculation the culture with strain Az7 together with 50% nitrogen application resulted in the IAA content, root dry weight, root length, fiber root number, and plant height as high as those on cultures containing 100% nitrogen (1 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) without inoculation. Inoculation of rice culture with *Azospirillum* is expected to reduce nitrogen application on rice IR64 by the IAA production as indicated by significant changes in the root growth and development. A higher concentrations of IAA tend to give better effects on the root growth and development of rice IR64.

**Key words:** *Azospirillum*, indole acetic acid, nitrogen fertilization, rice plant.

## PENDAHULUAN

Kelompok rhizobakteria yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman secara langsung adalah kelompok penghasil zat pengatur tumbuh. Kelompok ini berperan penting pada pertanian di wilayah tropis, khususnya pada tanaman padi dengan input pupuk sangat rendah. Salah satu anggota rhizobakteria dengan ke-

mampuan menambat nitrogen baik sebagai mikroorganisme yang hidup bebas atau berasosiasi dengan perakaran tanaman pangan seperti jagung dan padi adalah *Azospirillum* (Dobereiner dan Day 1976). Apabila keunggulan sifat bakteri ini dapat dimanfaatkan dengan efisien, maka harapan untuk mengurangi atau bahkan meniadakan penggunaan pupuk nitrogen dapat terwujud.

*Azospirillum brasilense* dapat memperbaiki produktivitas tanaman melalui penyediaan N<sub>2</sub> atau melalui stimulasi hormon (Tien *et al.* 1979). Fallik dan Okon (1996) menyatakan bahwa *Azospirillum* mampu meningkatkan hasil panen tanaman pada berbagai jenis tanah dan iklim dan menurunkan kebutuhan pupuk nitrogen sampai 35%. Inokulasi *A. lipoferum* pada tanaman jagung menyebabkan peningkatan hasil panen sekitar 10% (Madigan *et al.* 1997). Di samping itu, *Azospirillum* dapat meningkatkan jumlah serabut akar padi (Gunarto *et al.* 1999), tinggi tanaman (Okon dan Kapulnik 1986), dan menambah konsentrasi fitohormon asam indol asetat (AIA) dan asam indol butirat (AIB) bebas di daerah perakaran (Fallik *et al.* 1988).

Semula diketahui bahwa mekanisme utama peningkatan pertumbuhan tanaman oleh *Azospirillum* melalui fiksasi N<sub>2</sub> (Gallori dan Bazzicalupo 1985). Namun, hasil penelitian terhadap penggunaan mutan *nif* yang tidak mampu lagi menambat N<sub>2</sub> menunjukkan bahwa pengaruh inokulasi tanaman sereal dengan mutan-mutan *nif* tidak berbeda nyata dengan inokulasi strain-strain *Azospirillum* tipe liar (Barbieri *et al.* 1986). Tien *et al.* (1979) telah melaporkan penelitiannya tentang kemampuan *Azospirillum* dalam mensintesis AIA dapat memodifikasi perkembangan akar dan proses pertumbuhan tanaman inang. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa respon tanaman yang disebabkan oleh adanya faktor lain selain fiksasi N<sub>2</sub> di antaranya adalah pengaruh hormon (Bottini *et al.* 1989) yang mampu mengubah metabolisme dan pertumbuhan tanaman (Okon *et al.* 1988). Penelitian lain yang ditekankan pada produksi AIA telah banyak dilakukan terutama oleh *A. brasilense* pada gandum (Barbieri *et al.* 1986), pengaruh AIA terhadap perkembangan akar gandum (Barbieri dan Galli 1993) maupun efek fotostimulator dari mutan *A. brasilense* pada AIA (Dobbelaere *et al.* 1999). Dengan demikian peneliti-

tian lain untuk mengetahui produksi AIA oleh *Azospirillum* indigen Indonesia dalam mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan perkembangan akar padi sangat diperlukan. Untuk itu, pada penelitian ini dilakukan pengamatan produksi AIA dan pertumbuhan akar tanaman padi IR64 dalam kultur cair.

## BAHAN DAN METODE

### Mikroba dan Tanaman

Mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Azospirillum* indigen Indonesia (strain Az7, Az15, dan Az44) yang merupakan isolat unggul hasil isolasi dan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian (BB-Biogen). Tanaman padi uji yang digunakan adalah padi varietas IR64.

### Sekresi dan Penentuan AIA

Sel bakteri *Azospirillum* masing-masing ditumbuhkan di dalam media cair asam malat (Dobereiner dan Day 1976) sebanyak 100 ml pada inkubator goyang pada suhu 28°C. Sebanyak 20 ml kultur disentrifugasi pada 8000x g selama 30 menit pada suhu 4°C. Pengukuran AIA dilakukan dengan menggunakan *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Sebelumnya supernatan ditetapkan pH-nya pada 2,8 menggunakan 1,0 N HCl, kemudian sebanyak 0,5-1 ml larutan sampel diekstrak dengan 100 µl eter sebanyak tiga kali dengan membuang fraksi eter setiap pencucian. Ekstrak dikeringkan dan setelah semua eter teruapkan, ekstrak sampel ditambahkan metanol 60-65%. Sampel tersebut siap diinjeksikan ke kolom HPLC pada 254 nm, dengan volume sampel sebanyak 5 µl. Kadar AIA dihitung dengan membagi luas area sampel dan luas area standar, selanjutnya dikalikan konsentrasi standar (ppm).

### Pengujian Sistem Perakaran Padi secara *In Vitro*

Rancangan percobaan yang digunakan ialah Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Padi untuk uji ditumbuhkan di dalam larutan Yoshida dengan perlakuan, faktor pertama ialah inokulasi (tanpa inokulasi, inokulasi Az7, inokulasi Az15, dan inokulasi Az44) dan faktor kedua ialah taraf nitrogen (0, 25, 50, 75, dan 100% nitrogen). Konsentrasi nitrogen tertinggi untuk uji di dalam larutan Yoshida (100%) ialah 1 mM NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>. Kultur *Azospirillum* pada fase eksponensial disiapkan sebagai inokulum (10<sup>8</sup> sel/ml) dan inokulasi dilakukan pada saat tanam. Perlakuan tanpa inokulasi dilakukan dengan menambahkan medium cair asam malat ke dalam media.

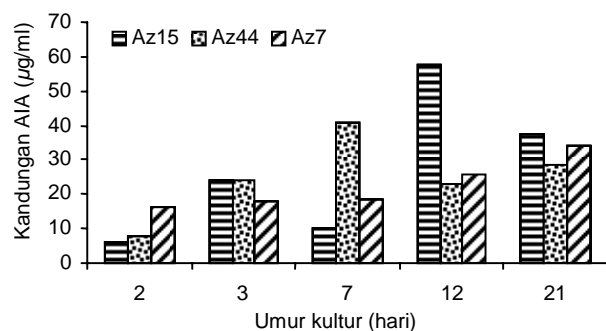
Benih padi IR64 sebelum dikecambahkan, disterilkan terlebih dahulu menggunakan larutan 5% sodium hipoklorit (NaClO). Setelah benih padi dicuci dengan air mengalir selama 20 menit, selanjutnya direndam di dalam 5% sodium hipoklorit selama 30 menit dan dicuci dengan air steril paling sedikit 5 kali. Benih padi IR64 sebelumnya dikecambahkan pada cawan Petri dengan alas kertas saring steril. Benih dibiarkan berkecambah selama 2 hari kemudian ditanam satu benih di dalam setiap tabung reaksi berukuran 20 cm x 3 cm yang berisi media tumbuh Yoshida sebanyak 25 ml dengan kandungan nitrogen yang berlainan sesuai perlakuan. Semua tabung diinkubasi selama 12 hari/malam pada suhu 28/25°C.

Pengamatan dilakukan dengan mengambil sampel media untuk dianalisis kandungan AIA-nya dan pengamatan tanaman meliputi tinggi tanaman, panjang akar, jumlah serabut akar, dan bobot kering akar.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Sekresi AIA oleh *Azospirillum* sp. di dalam Media

Terbukti bahwa setiap strain *Azospirillum* mempunyai pola produksi AIA yang berbeda sesuai dengan waktu inkubasi (Gambar 1). Peningkatan cukup drastis ditunjukkan oleh Az44, di mana produksi AIA-nya pada hari ke-7 inkubasi meningkat hampir dua kali lebih tinggi, yaitu 40,42 µg/ml dibandingkan dengan Az15 dan Az7. Di lain pihak produksi AIA dari Az7 hampir konstan sementara penurunan drastis ditunjukkan oleh Az15, yaitu sampai 9,87 µg/ml. Semakin lama waktu inkubasi, produksi AIA dalam media berfluktuasi seperti yang ditunjukkan oleh strain Az15 dan Az44. Produksi AIA tertinggi dicapai oleh Az15 pada hari ke-12 inkubasi (57,93 µg/ml) dan selanjutnya menurun sampai akhir inkubasi. Namun hasil ini ternyata jauh lebih rendah dibandingkan dengan hasil Gunarto (1996) di mana strain V.S2.2 mampu memproduksi AIA sebesar 322,28 µg/ml pada inkubasi hari ke-4 yang



**Gambar 1.** Produksi AIA oleh *Azospirillum* ke dalam media pada periode inkubasi yang berbeda.

merupakan fase eksponensial. Hasil yang berbeda diberikan oleh Az7, yaitu memiliki pola produksi AIA secara stabil meskipun pada saat nutrisi dalam medium menurun. Pada awal inkubasi, sumber nutrisi tinggi sehingga produksi AIA tinggi dan terus meningkat secara bertahap meskipun tidak drastis namun konsisten sampai akhir inkubasi. Pada strain ini terdapat fenomena bahwa pola produksi dan konsumsi AIA berjalan seimbang.

Produksi AIA oleh ketiga strain ini masih lebih tinggi dibandingkan dengan hasil Pratiwi (1999), di mana *A. lipoferum* J21.4 hanya menghasilkan AIA sebesar 14,10  $\mu\text{g/ml}$ . Produksi AIA oleh *Azospirillum* sp. dalam uji ini sebanding dengan hasil mutan dari *A. lipoferum* J21.4, yaitu *A. lipoferum* J21.4  $\Omega$  Km 4.26 sekitar 18,37-32,78  $\mu\text{g/ml}$  (Tien *et al.* 1979). Terdapat kecenderungan bahwa setelah *Azospirillum* menghasilkan konsentrasi AIA tertinggi, selanjutnya menurun sampai akhir inkubasi. Hal tersebut berarti setelah periode kenaikan AIA, beberapa nutrisi dalam medium mengalami penurunan. Jadi *Azospirillum* masih mampu memproduksi AIA dan secara simultan bakteri juga mengkonsumsi AIA untuk pertumbuhannya meskipun medium pertumbuhan sudah miskin nutrisi.

Tien *et al.* (1979) melaporkan bahwa produksi AIA oleh *A. brasilense* meningkat seiring umur bakteri sampai fase stasioner. Dilain pihak produksi AIA oleh *A. brasilense* UAP 14 dalam medium yang mengandung N meningkat drastis saat 24-72 jam inkubasi, sementara sel bakteri siap memasuki fase stasioner sekitar 25 jam inkubasi (Baca *et al.* 1994). Pada tahap ini, hasil data AIA oleh strain *Azospirillum* yang diuji dalam penelitian ini juga menunjukkan kesamaan hasil dengan penemuan Tien *et al.* (1979) dan Baca *et al.* (1994). Jadi perpanjangan periode inkubasi dalam sekresi IAA oleh *Azospirillum* dalam uji ini menunjukkan hasil yang fluktuatif untuk Az15 dan Az44, dan linier untuk Az7. Untuk itulah AIA dipandang sebagai hormon tumbuh yang paling penting diproduksi oleh *Azospirillum* (Oda dan Vanderleyden 2000, Okon dan Kapulnik 1986).

### Pengujian Sistem Perakaran Padi secara *In Vitro*

#### Tinggi tanaman

Hasil pengujian terhadap tinggi tanaman menunjukkan bahwa terdapat pengaruh nyata perlakuan taraf nitrogen terhadap tinggi tanaman 7 dan 12 hari setelah tanam (HST) (Tabel 1) dan pengaruh nyata perlakuan inokulasi *Azospirillum* terhadap tinggi tanaman 12 HST (Tabel 2). Pada saat umur padi 12 HST, meskipun antara perlakuan strain tidak berbeda nyata, tetapi dibandingkan dengan tanpa inokulasi pemberian

**Tabel 1.** Pengaruh pemberian nitrogen terhadap tinggi tanaman padi varietas IR64 pada umur 7 dan 12 HST.

Taraf nitrogen (%)	Tinggi tanaman (cm)	
	7 HST	12 HST
0	17,60d	19,03d
25	17,78d	23,85c
50	20,01c	28,52b
75	21,82b	29,99ab
100	23,36a	31,99a

HST = hari setelah tanam.

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Tabel 2.** Pengaruh inokulasi *Azospirillum* terhadap tinggi tanaman padi varietas IR64 pada umur 12 HST.

Inokulasi	Tinggi tanaman (cm)
Tanpa inokulasi	24,18b
<i>Azospirillum</i> Az15	27,37a
<i>Azospirillum</i> Az44	26,83a
<i>Azospirillum</i> Az7	28,33a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

*Azospirillum* memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tanaman padi pada umur tersebut. Di lain pihak taraf N 25% ternyata sudah meningkatkan tinggi tanaman secara nyata.

Perlakuan inokulasi *Azospirillum* pada umur 7 HST masih belum memberikan peningkatan tinggi tanaman padi dengan nyata pada semua taraf perlakuan nitrogen. Peningkatan tinggi tanaman yang diinokulasi *Azospirillum* dibandingkan dengan tanpa inokulasi pada semua taraf sumber N terlihat jelas saat umur 12 HST. Pada nitrogen 0% tanpa inokulasi ternyata menghasilkan tinggi tanaman paling rendah. Sebaliknya meskipun tanpa N, dengan inokulasi *Azospirillum* rata-rata menghasilkan tinggi tanaman lebih tinggi dari pada tanpa inokulasi. Pengaruh antarstrain belum memberikan perbedaan nyata terhadap tinggi tanaman, namun petunjuk bahwa pengaruh setiap strain tersebut berbeda mulai kelihatan. Pemberian N 25% dengan perlakuan tanpa inokulasi hanya meningkatkan tinggi tanaman sebesar 10%, sedangkan pemberian *Azospirillum* pada semua strain yang diuji mampu meningkatkan tinggi tanaman masing-masing sekitar 23, 44, dan 36% untuk Az15, Az44, dan Az7. Inokulasi *Azospirillum* pada semua strain yang diujikan secara konsisten selalu memberikan tinggi tanaman umur 12 HST lebih tinggi pada setiap taraf pemberian N yang diteliti. Dibandingkan dengan dua strain lainnya, kombinasi strain Az7 dengan nitrogen 50% mampu meningkatkan tinggi tanaman umur 12 HST (31,5 cm) melebihi taraf nitrogen 100% tanpa inokulasi (30,8 cm). Nayak *et al.* (1986) melaporkan bahwa inokulasi *Azospirillum* me-

meningkatkan tinggi dan jumlah anakan padi varietas Hua dan mendorong pertumbuhan awal padi Hua dan OS4. Demikian juga hasil yang diperoleh oleh Gunarto (1994) menunjukkan bahwa inokulasi *Azospirillum* dapat merangsang pertumbuhan awal tanaman padi. Berdasarkan hasil ini jelas bahwa fiksasi nitrogen dan kemampuan *Azospirillum* mempercepat pertumbuhan tanaman menjadikan mikroba ini berfungsi sebagai pupuk mikroba (Dart 1986), terutama karena kemampuannya menghasilkan hormon tumbuh (Okon dan Labandera-Gonzalez 1994) yang pada akhirnya mampu meningkatkan tinggi tanaman padi.

**Panjang dan jumlah serabut akar**

Perlakuan inokulasi *Azospirillum* pada semua taraf N menghasilkan panjang akar lebih tinggi dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Perlakuan inokulasi berpengaruh nyata terhadap panjang akar padi IR64 baik umur 7 maupun 12 HST (Tabel 3), sedangkan perlakuan taraf N secara terpisah juga berpengaruh nyata saat padi umur 7 HST (Tabel 4). Pemberian *Azospirillum* Az7 pengaruhnya lebih baik dan nyata terhadap panjang akar padi umur 7 HST dibandingkan dengan Az15. Meskipun antarstrain tidak menunjukkan perbedaan pengaruh terhadap panjang akar umur 12 HST, namun dibandingkan dengan tanpa inokulasi tetap memberikan pengaruh lebih tinggi secara nyata.

Pada perlakuan tanpa N, inokulasi *Azospirillum* belum menunjukkan pengaruh berarti terhadap panjang akar dibandingkan dengan tanpa inokulasi pada umur padi 7 HST. Namun, penambahan dosis N terendah (25%) dengan pemberian *Azospirillum* mulai

**Tabel 3.** Pengaruh inokulasi *Azospirillum* terhadap panjang akar padi IR64.

Inokulasi	Panjang akar (cm)	
	7 HST*	12 HST*
Tanpa inokulasi	4,18b	4,89b
<i>Azospirillum</i> Az15	4,74ab	6,96a
<i>Azospirillum</i> Az44	5,54a	6,99a
<i>Azospirillum</i> Az7	5,47a	7,15a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Tabel 4.** Pengaruh pemberian nitrogen terhadap panjang akar padi varietas IR64 umur 7 HST.

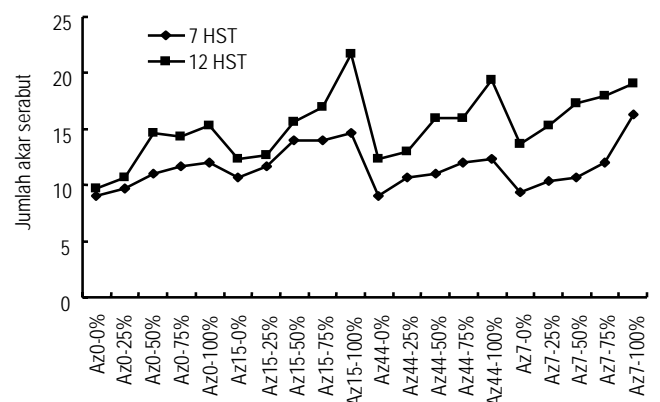
Taraf N (%)	Panjang akar (cm)*
0	3,69c
25	4,55bc
50	4,70bc
75	5,63ab
100	6,34a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

memberikan pengaruh baik terhadap peningkatan panjang akar. Selaras dengan hasil sebelumnya yang menunjukkan bahwa Az44 pada taraf N 100% memberikan tinggi tanaman tertinggi, maka demikian juga terhadap panjang akar.

Pada saat padi umur 12 HST inokulasi *Azospirillum* pada semua taraf N mampu meningkatkan panjang akar padi. Pada umur tersebut, pemberian N dosis terendah bersama inokulasi *Azospirillum* mampu meningkatkan panjang akar lebih tinggi daripada tanpa inokulasi. Hal lebih menarik lagi bahwa tanpa sumber N, perlakuan inokulasi ternyata mampu meningkatkan panjang akar masing-masing sebesar 24, 66, dan 23% untuk Az15, Az44, dan Az7 dibandingkan dengan tanpa inokulasi. Pada umur ini juga terjadi perbedaan pengaruh bahwa Az7 pada 100% N ternyata menghasilkan panjang akar tertinggi, yaitu 10 cm.

Pemberian inokulasi tanpa N tidak memperlihatkan pengaruh nyata terhadap peningkatan jumlah serabut akar, namun pada penambahan dosis N sampai tertinggi dengan inokulasi *Azospirillum* memberikan pengaruh lebih baik terhadap jumlah serabut akar (Gambar 2). Jumlah serabut akar terbanyak dihasilkan oleh Az7 pada taraf 100%, dan saat padi umur 12 HST jumlah serabut akar meningkat pesat dengan perlakuan inokulasi pada semua strain dan pada semua taraf N yang diujikan. Hasil pengamatan panjang dan jumlah serabut akar menunjukkan kemiripan dengan tinggi tanaman, di mana kombinasi Az7 dengan N 50% mampu meningkatkan panjang akar dan jumlah serabut akar melebihi hasil dari aplikasi N 100% tanpa inokulasi. Hasil tersebut didukung oleh pernyataan bahwa fitohormon yang diproduksi *Azospirillum* menyebabkan perubahan morfologi akar setelah inokulasi



Az0 = tidak diinokulasi; Az7, Az15 dan Az44 = strain *Azospirillum*; 0, 25, 50, 75, dan 100% = taraf N dalam bentuk amonium nitrat di dalam larutan Yoshida.

**Gambar 2.** Pengaruh pemberian N terhadap jumlah serabut akar padi varietas IR64 pada umur 7 dan 12 HST.

(Bashan dan Levanony 1990), di mana terjadi peningkatan densitas dan panjang rambut akar, perubahan akar lateral maupun area permukaan akar (Tien *et al.* 1979, Dubrovsky *et al.* 1994) karena ada peningkatan serapan hara (Barbieri dan Galli 1993).

Ada beberapa faktor yang menentukan efisiensi penggunaan pupuk antara lain jenis padi dan pupuk (Ismunadji *et al.* 1989). Padi varietas IR64 yang digunakan termasuk jenis padi indika, sedangkan sumber N pada media Yoshida diberikan dalam bentuk amonium nitrat. Apabila nitrat dipakai sebagai sumber N, maka pH kultur akan naik. Baik amonium maupun nitrat merupakan sumber N yang sama-sama efektif, tetapi bentuk ion amonium diserap lebih cepat daripada ion nitrat. Oleh sebab itu, bila kedua bentuk ion ini diberikan pada larutan kultur maka pertama kali pH kultur akan turun dan kemudian naik. Meskipun nilai pH tidak diukur, namun sejalan dengan sistem pengujian ini, maka respon pemberian N menunjukkan perbedaan N antarstrain yang diujikan.

### Bobot kering akar

Bobot kering akar padi varietas IR64 menunjukkan perbedaan baik perlakuan inokulasi atau tanpa inokulasi pada semua taraf N. Perlakuan inokulasi dan taraf N secara terpisah berpengaruh nyata terhadap bobot kering akar padi umur 12 HST (Tabel 5). Pemberian *Azospirillum Az7* menghasilkan bobot kering akar tertinggi secara nyata dibandingkan dengan kedua strain lainnya; sementara antara Az15 dan Az44 tidak berbeda nyata. Perlakuan taraf N ternyata memberikan pengaruh nyata pada taraf 50% dibandingkan tanpa N (Tabel 6).

**Tabel 5.** Pengaruh inokulasi *Azospirillum* terhadap bobot kering akar padi varietas IR64 pada umur 12 HST.

Inokulasi	Bobot kering akar (mg/pot)*
Tanpa inokulasi	16,65c
<i>Azospirillum Az15</i>	18,91b
<i>Azospirillum Az44</i>	18,37b
<i>Azospirillum Az7</i>	21,54a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Tabel 6.** Pengaruh pemberian nitrogen terhadap bobot kering akar padi varietas IR64 pada umur 12 HST.

Taraf nitrogen (%)	Bobot kering akar (mg/pot)*
0	16,13c
25	16,58c
50	20,11b
75	19,51b
100	22,01a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

Saat padi umur 12 HST berdasarkan bobot kering akar diketahui bahwa pemberian Az7 lebih baik pengaruhnya dibandingkan kedua strain lainnya. Inokulasi Az7 memberikan hasil bobot kering akar tertinggi pada pemberian taraf N mulai terendah sampai tertinggi ataupun tanpa N dibandingkan dengan kedua strain lainnya dan tanpa inokulasi. Berdasarkan bobot kering akar, antara strain Az15 dan Az44 sama baik pengaruhnya terhadap perkembangan akar, meskipun masih di bawah kemampuan Az7.

Pemberian N 50% dengan inokulasi Az7 mampu meningkatkan bobot kering akar sebesar 42%, sementara Az15 dan Az44 pada taraf N yang sama hanya memberikan peningkatan masing-masing 25 dan 13%, dan pada perlakuan tanpa inokulasi sebesar 19%. Meskipun demikian rata-rata bobot kering akar pada perlakuan inokulasi lebih tinggi daripada tanpa inokulasi.

Perbaikan bobot kering akar sebenarnya tidak mencerminkan tingginya kadar hara atau meningkatnya kapasitas penambatan N<sub>2</sub> di rizosfer. Peningkatan ini lebih banyak disebabkan adanya keseimbangan kadar hara di dalam tanaman. Kadar hara tertentu yang meningkat terlalu tinggi dapat meracuni tanaman dan pada gilirannya nanti akan mempengaruhi proses metabolisme tanaman, sehingga pembentukan bobot kering tanaman terhambat. Namun demikian, kemampuan *Azospirillum* bukanlah dalam hal memproduksi hormon AIA (Jain dan Patriquin 1985, Horemans *et al.* 1986, Tien *et al.* 1979), namun lebih pada peningkatan efisiensi serapan hara sehingga membantu pertumbuhan akar tanaman.

### Sekresi Asam Indol Asetat

Isolat-isolat yang diuji memiliki kemampuan yang berbeda dalam mensekresikan AIA. Produksi AIA oleh *Azospirillum* menunjukkan pola yang berbeda pada saat umur 7 dan 12 HST. Perlakuan inokulasi dan taraf nitrogen secara terpisah memberikan pengaruh nyata terhadap produksi AIA pada umur 7 dan 12 HST (Tabel 7 dan 8), dan interaksi antara inokulasi dan taraf nitrogen juga memberikan pengaruh nyata saat umur 12 HST. Terlihat bahwa produksi AIA antarstrain saat umur 7 HST tidak berbeda nyata, namun terdapat perbedaan nyata terutama Az7 dibandingkan dengan kedua strain lainnya pada umur 12 HST. Di mana Az7 memproduksi AIA tertinggi. Pemberian nitrogen pada taraf 25% telah meningkatkan produksi AIA, namun baru pada taraf 75% N produksi AIA lebih tinggi secara nyata dibandingkan dengan kontrol tanpa inokulasi. Pada saat 12 HST, pemberian nitrogen pada berbagai taraf tidak berpengaruh nyata terhadap produksi AIA, meskipun berbeda nyata dibandingkan tanpa N. Se-

**Tabel 7.** Pengaruh inokulasi *Azospirillum* terhadap produksi AIA pada tanaman padi varietas IR64.

Inokulasi	Kandungan AIA ( $\mu\text{g/ml}$ )*	
	7 hari	12 hari
Tanpa inokulasi	1,07b	0,81c
<i>Azospirillum</i> Az15	2,94a	1,48b
<i>Azospirillum</i> Az44	3,26a	1,42b
<i>Azospirillum</i> Az7	3,16a	1,97a

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

**Tabel 8.** Pengaruh pemberian nitrogen terhadap produksi AIA pada tanaman padi varietas IR64.

Taraf nitrogen	Kandungan AIA ( $\mu\text{g/ml}$ )*	
	7 hari	12 hari
0	1,53c	1,93a
25	2,06bc	1,33b
50	2,25bc	1,30b
75	3,26ab	1,46b
100	3,92a	1,09b

Angka-angka pada lajur sama yang diikuti huruf sama tidak berbeda pada taraf nyata 5% menurut uji Beda Nyata Terkecil (BNT).

makin tinggi taraf N, perkembangan akarnya semakin baik. Perakaran yang paling baik diperoleh pada perlakuan inokulasi *Azospirillum* Az7 pada taraf 100% N. Inokulasi *Azospirillum* memberikan dampak yang lebih baik terhadap perkembangan akar tanaman padi, jumlah akar lebih lebat dan rambut akar lebih banyak.

Hasil menunjukkan bahwa semakin lama umur kultur, pada semua perlakuan cenderung terjadi penurunan produksi AIA. Hal ini kemungkinan besar nutrisi sudah menurun, di lain pihak AIA yang dihasilkan juga dikonsumsi kembali untuk pertumbuhan. Inokulasi tanaman padi dengan strain-strain *Azospirillum* mampu mempercepat perkembangan akar lateral dan merangsang kerapatan dan panjang rambut akar, yang pada akhirnya menyebabkan peningkatan serapan hara pada tanaman padi.

Inokulasi memberikan dampak yang lebih baik terhadap perkembangan akar tanaman padi, di mana jumlah akar lebih lebat dan rambut akar lebih banyak, jadi kemampuan sekresi AIA lebih banyak. Fitohormon AIA menghasilkan lebih banyak akar lateral, rambut akar, dan cabang rambut akar. Kemampuan *Azospirillum* dalam mensintesis AIA dapat memodifikasi perkembangan akar dan proses pertumbuhan tanaman inang (Tien *et al.* 1979). Strain-strain *Azospirillum* yang mampu memproduksi AIA tinggi dalam kulturnya sangat mempengaruhi morfologi akar tanaman (Jain dan Patriquin 1985).

## KESIMPULAN

Strain *Azospirillum* Az15 dan Az44 memiliki kemampuan yang tinggi dalam memproduksi AIA, masing-masing sebesar 57,93  $\mu\text{g/ml}$  pada umur 12 hari dan 40,42  $\mu\text{g/ml}$  pada umur 7 hari. Pola produksi IAA dalam kultur cair oleh *Azospirillum* Az15 dan Az44 berfluktuasi sampai akhir periode pertumbuhan, sementara Az7 memiliki pola sementara.

Inokulasi *Azospirillum* Az7 dengan pemberian nitrogen 100% memberikan pengaruh terbaik terhadap perkembangan akar padi meliputi panjang, jumlah serabut, dan bobot kering akar. Pada aplikasi dengan tanaman padi, saat umur 7 HST, perlakuan tanpa inokulasi dan dengan inokulasi menunjukkan peningkatan produksi AIA seiring meningkatnya taraf N. Pada saat padi umur 12 HST, tanpa inokulasi tetap meningkatkan produksi AIA dengan meningkatnya taraf N dan pada perlakuan inokulasi *Azospirillum* menghasilkan AIA yang semakin menurun dengan meningkatnya taraf N. Semakin tinggi jumlah AIA yang diproduksi oleh *Azospirillum*, semakin baik pengaruhnya terhadap perkembangan akar padi.

## DAFTAR PUSTAKA

- Baca, B.E., L. Soto-Urdua, Y.G. Xocchihua-Corona, and Cuervo-Garcia. 1994. Characterization of two aromatic amino acid aminotransferase and production of indole-acetic acid in *Azospirillum* strains. *Soil Biol. Biochem.* 26:57-63.
- Barbieri, P. and E. Galli. 1993. Effect on wheat root development of inoculation with an *Azospirillum brasilense* mutant with altered indole-3-acetic acid production. *Res. Microbiol.* 144:69-75.
- Barbieri, P., T. Zanelli, E. Galli, and G. Zanetti. 1986. Wheat inoculation with *Azospirillum brasilense* Sp6 and some mutants altered in nitrogen fixation and indole-3-acetic acid production. *FEMS Microbiol. Lett.* 36:87-90.
- Bashan, Y. and H. Levanony. 1990. Current status of *Azospirillum* inoculation technology: *Azospirillum* as a challenge of agriculture. *Can. J. Microbiol.* 36:591-608.
- Bottini, R., M. Fulchieri, D. Pearce, and R.P. Pharis. 1989. Identification of gibberellins A<sub>1</sub>, A<sub>3</sub> and iso-A<sub>3</sub> in cultures of *Azospirillum lipoferum*. *Plant Physiol.* 90:45-47.
- Dart, P.J. 1986. Nitrogen fixation associated with non-legumes in agriculture. *Plant Soil* 90:303-334.
- Dobereiner, J. and J.M. Day. 1976. Associative symbioses in tropical grasses: Characterization of microorganisms and dinitrogen-fixing sites. In Newton, W.E. and Nyman, C.J. (Eds.). *Proceedings of the 1<sup>st</sup> International Symposium on N<sub>2</sub> Fixation*. Washington State University Press, Pullman. p. 518-538.

- Dobbelaere, S., A. Croonenborghs, A. Thys, A. Vande Broek, and J. Vanderleyden. 1999.** Phytostimulatory effect of *Azospirillum brasilense* wild type and mutant strains altered in IAA production on wheat. *Plant Soil* 212:155-164.
- Dubrovsky, J.G., M.E. Puente, and Y. Bashan. 1994.** *Arabidopsis thaliana* as a model system for the study of the effect of inoculation by *Azospirillum brasilense* sp-245 on root hair growth. *Soil Biol. Biochem* 26:1657-1664.
- Fallik, E., Y. Okon, Y. Epstein, A. Goldman, and M. Fischer. 1988.** Identification and qualification of IAA and IBA *Azospirillum brasilense* inoculated maize roots. *Soil Biol. Biochem.* 21:147-153.
- Fallik, E. and Y. Okon. 1996.** The response of maize (*Zea mays*) to *Azospirillum* inoculation in various types of soils in the field. *World. J. Microb. Biotech.* 12:511-515.
- Gallori, E. and M. Bazzicalupo. 1985.** Effect of nitrogen compounds on nitrogenase activity in *Azospirillum brasilense*. *FEMS Microbiol. Lett.* 28:35-38.
- Gunarto, L. 1994.** *Azospirillum* inoculation study on lowland rice. Final Report ICRS, JIRCAS.
- Gunarto, L. 1996.** Capability of *Azospirillum* to produce indole-acetic acid, to fix N<sub>2</sub> in association with rice plant and using RAPD to fingerprint indigenous *Azospirillum*. Final Report ICRS, JIRCAS.
- Gunarto, L., K. Adachi, and T. Senboku. 1999.** Isolation and Selection of indigenous *Azospirillum* spp. from a subtropical island, and effect of inoculation on growth of lowland rice under several levels of N application. *Biol. Fert. Soils* 28:129-135.
- Horemans, S., K. De Coninck, J. Neuray, R. Hermans, and K. Flassak. 1986.** Production of plant growth substances by *Azospirillum* sp. and other rhizosphere bacteria. *Symbiosis* 2:341-346.
- Ismunadji, M., M. Syam, dan Yiswadi. 1989.** Padi: Buku 2. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan. Bogor. 652 hlm.
- Jain, D.K. and D.G. Patriquin. 1985.** Characterization of a substance produced by *Azospirillum* which causes branching of wheat root hairs. *Can. J. Microbiol* 31:206-210.
- Oda, S. and J. Vanderleyden. 2000.** *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses; genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* 24:487-506.
- Okon, Y., E. Fallik, S. Sarig, E. Yahalom, and S. Tal. 1988.** Plant growth promoting effects of *Azospirillum*. In Bothe, de Bruijn and Newton (Eds.). *Nitrogen Fixation: Hundred Years after Gustav Fischer*. Stuttgart. p. 741-746.
- Okon, Y. and C.A. Labandera-Gonzalez. 1994.** Agronomic applications of *Azospirillum*: An evaluation of 20 years worldwide field inoculation. *Soil Biol. Biochem.* 26:1591-1601.
- Okon, Y. and Y. Kapulnik. 1986.** Development and function of *Azospirillum* inoculated roots. *Plant Soil* 90:3-16.
- Pratiwi, E. 1999.** Karakterisasi mutan biosintesis asam indolasetat (IAA) pada *Azospirillum* spp. yang dihasilkan dari mutagenesis transposon. Tesis. Program Pascasarjana. Institut Peranian Bogor.
- Tien, T.M., H. Gaskins, and D.H. Hubbell. 1979.** Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L). *Appl. Environ. Microbiol.* 37:1016-1024.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko, and J. Parker. 1997.** Brock, the Biology of Microorganisms. 8<sup>th</sup> Prentice Hall. Upper saddle River. New Jersey.
- Nayak, D.N., J.K. Ladha, and I. Watanabe. 1986.** The fate of marker *Azospirillum lipoferum* inoculated into rice and its effect in growth, yield, and N<sub>2</sub> fixation of plants studied by acetylene reduction, <sup>15</sup>N<sub>2</sub> feeding and <sup>15</sup>N dilution techniques. *Biol. Fert. Soils* 2:7-14.
-