KAJIAN APLIKASI BAKTERI ENDOFIT PENAMBAT NITROGEN *Gluconacetobacter diazotrophicus* DAN DOSIS PUPUK N TERHADAP SERAPAN NITROGEN SERTA PERTUMBUHAN TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) DI P3GI, PASURUAN

Oleh

LUSI NURHAYATI TAMBA

PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI

MINAT MANAJEMEN SUMBERDAYA LAHAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN TANAH

MALANG

2015

repository.ub.ac.id

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KAJIAN APLIKASI BAKTERI ENDOFIT PENAMBAT NITROGEN *Gluconacetobacter diazotrophicus* DAN DOSIS PUPUK N TERHADAP SERAPAN NITROGEN SERTA PERTUMBUHAN TANAMAN TEBU (*Saccharum officinarum* L.) DI P3GI, PASURUAN

Oleh

LUSI NURHAYATI TAMBA
115040200111113

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh
Gelar Sarjana Pertanian Strata Satu (S-1)

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

FAKULTAS PERTANIAN

JURUSAN TANAH

MALANG

2015

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa segala pernyataan dalam skripsi ini merupakan hasil penelitian saya sendiri, dengan bimbingan komisi pembimbing. Skripsi ini tidak pernah diajukan untuk memperoleh gelar diperguruan tinggi manapun dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditujukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Agustus 2015

repository.ub.ac
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

LEMBAR PERSETUJUAN

Judul Skripsi	:	Kajian Aplikasi Bakteri Endofit Penambat Nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan Dosis Pupuk N terhadap Serapan Nitrogen serta Pertumbuhan Tanaman Tebu *(Saccharum officinarum* L.*)* di P3GI, Pasuruan
Nama Mahasiswa	:	Lusi Nurhayati Tamba
NIM	:	115040200111113
Jurusan	:	Tanah
Program Studi	:	Agroekoteknologi
Laboratorium	:	Biologi
Menyetujui	:	Dosen Pembimbing

Disetujui Oleh :

Pembimbing Utama,	Pembimbing Kedua,
Dr. Ir. Yulia Nuraini, MS	Dias Gustomo, SP. MSc
NIP. 19611109 198503 2 001	NIK. 87120791

a.n Dekan.

Ketua Jurusan Tanah

Prof. Dr. Ir. Zaenal Kusuma, SU

NIP. 19540501 198103 1 006

Tanggal Persetujuan :

LEMBAR PENGESAHAN

Mengesahkan

MAJELIS PENGUJI

Penguji I	Penguji II
Dr. Ir. Sugeng Prijono, SU	Dr. Ir. Yulia Nuraini, MS
NIP. 19580214 198503 1 003	NIP. 19611109 198503 2 001
Penguji III	Penguji IV
Dias Gustomo, SP. MSc	Danny Dwi Saputra, SP. MSc
NIK. 87120791	NIP 19781021 200502 1 010

Tanggal Lulus :

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

Skripsi ini Kupersembahkan untuk

Ayah, Ibu, Kakak, Adik, Sahabat dan

Keluarga tersayang

repository.ub.ac
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

RINGKASAN

Lusi Nurhayati Tamba. 115040200111113. **Kajian Aplikasi Bakteri Endofit Penambat Nitrogen** *Gluconacetobacter diazotrophicus* **dan Dosis Pupuk N terhadap Serapan Nitrogen serta Pertumbuhan Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) di P3GI, Pasuruan.** Di bawah bimbingan Yulia Nuraini sebagai Pembimbing Utama dan Dias Gustomo sebagai Pembimbing Pendamping.

Nitrogen merupakan hara makro essensial yang sangat diperlukan tanaman tebu *(Saccharum officinarum* L.*)*. Karakteristik nitrogen yang mobil menjadi penyebab belum terpenuhinya kebutuhan nitrogen bagi tanaman. Upaya yang dapat dilakukan untuk mengoptimalkan kebutuhan nitrogen yaitu dengan mengkombinasikan pupuk N (ZA) dengan pupuk hayati berupa bakteri endofit penambat nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

Penelitian menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) 5 perlakuan 3 ulangan dengan mengkombinasikan pupuk N (ZA) dalam berbagai dosis mulai dari dosis 200 kg N/ha, 400 kg N/ha, 600 kg N/ha, dan 800 kg N/ha serta aplikasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan dosis 5 mL.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perlakuan dosis pupuk N tidak berpengaruh nyata terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan terhadap pertumbuhan vegetatif tebu. Perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* hanya berpengaruh nyata terhadap kadar N-total tanah dan serapan N tanaman. Perlakuan P2 (600 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) mempunyai populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya, yaitu 53,0 x 10^2 cfu/mL, dan juga mempunyai kadar N-total tanah yang lebih tinggi daripada perlakuan lainnya, yaitu 0,16 %. Pertumbuhan vegetatif tebu pada P1 (800 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki pengaruh yang baik untuk tinggi, jumlah daun, berat kering dan juga serapan N tebu. Sedangkan untuk jumlah anakan, perlakuan P4 (200 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki pertumbuhan anakan yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya. Analisis korelasi menunjukkan bahwa populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang sedang terhadap kadar N-total tanah dengan koefisien korelasi 41 %. Sedangkan korelasi antara populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan serapan N tanaman dan pertumbuhan vegetatif tebu memiliki korelasi positif yang rendah dengan interval koefisien korelasi 10-30 %.

Kata kunci : Pupuk nitrogen, bakteri endofit, tebu

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

repository.ub.ac.id

SUMMARY

Lusi Nurhayati Tamba. 115040200111113. **Study Application Endophytic Nitrogen-Fixing Bacteria** *Gluconacetobacter diazotrophicus* **and N Fertilizer Dose on Plant Growth and Nitrogen Uptake of Sugarcane** *(Saccharum officinarum* L.) **in P3GI, Pasuruan.** Supervised by Yulia Nuraini and Dias Gustomo.

Nitrogen is an essential nutrient that is very necessary sugarcane *(Saccharum officinarum L.)*. Characteristics of mobile nitrogen into the cause of unmet needs nitrogen for plants. Efforts should be made to optimize the nitrogen requirement which combine fertilizer N (ZA) with a biological fertilizer in the form of endophytic bacteria N_2 fastening *Gluconacetobacter diazotrophicus*.

Research using Completely Randomized Design (CRD) with 5 treatment and 3 replications. The treatment in this study combines fertilizer N (ZA) in various doses ranging from 200 kg N/ha, 400 kg N/ha, 600 kg N/ha and 800 kg N/ha then application *Gluconacetobacter diazotrophicus* endophytic bacteria with dose of 5 mL at each treatment.

The results showed that treatment of N fertilizer dose did not significantly affect for populations of endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* and the vegetative growth of sugar cane too. Dose of N fertilizer treatment with utilization of endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* only significant effect on N-total and N uptake of sugar cane. Treatment in P2 (600 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) has a larger population of *Gluconacetobacter diazotrophicus* endophytic bacteria than other treatments, is 53.0 x 10^2 cfu/mL, and has higher levels of N-total than other treatments is 0.16%. For vegetative cane, P1 (800 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) has a good influence for the high, number of leaves, dry weight and N uptake of sugar cane. While the number of tillers, P4 (200 kg N/ha + *Gluconacetobacter diazotrophicus* 5 mL) has a seedling growth more than other treatments. Correlation analysis showed that populations of endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* is medium positive correlation for N-total with coefficient correlation 41%. While correlation between populations of endophytic bacteria *Gluconacetobacter diazotrophicus* with total N uptake and the growth of sugar cane have a low positive correlation with interval coefficient correlation is 10-30%.

Key words : Nitrogen fertilizer, endophytic bacteria, sugarcane

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat dan karunia-Nya penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul **"Kajian Aplikasi Bakteri Endofit Penambat Nitrogen** *Gluconacetobacter diazotrophicus* **Dan Dosis Pupuk N Terhadap Serapan Nitrogen Serta Pertumbuhan Tanaman Tebu** *(Saccharum officinarum* L.*)* **Di P3GI, Pasuruan"**.

Dengan rasa hormat dan kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Zaenal Kusuma, SU selaku Ketua Jurusan Tanah.
2. Dr. Ir. Sugeng Prijono, SU selaku tim pemantau skripsi.
3. Ibu Dr. Ir. Yulia Nuraini, MS selaku dosen pembimbing utama dari Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, yang telah memberikan bimbingan dan saran dalam penyelesaian skripsi ini. Terimakasih telah meluangkan waktu untuk membimbing dan mengarahkan penulis.
4. Bapak Dias Gustomo SP. MSc selaku pembimbing pendamping dari Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI) Pasuruan, yang telah membimbing penulis selama melaksanakan penelitian. Terimakasih atas saran, kritikan dan waktu yang telah diberikan selama penelitian.
5. Kedua Orangtua, Adik, Kakak, dan seluruh keluarga yang telah memberikan dukungan material maupun moral kepada penulis. Terimakasih atas doa, semangat, dan dukungannya selama melaksanakan penelitian.
6. Mbak Ida, sebagai pembimbing laboratorium mikrobiologi di P3GI, Pak Hadi dan Pak Zainul yang telah membimbing, mengarahkan, dan memberikan pembelajaran kepada penulis. Terimakasih atas bantuan, semangat dan canda tawanya selama penulis melaksanakan kegiatan penelitian di Pasuruan.
7. M. Lukman Hakim yang telah banyak membentu penulis, baik dari segi transportasi, fikiran, waktu selama melaksanakan penelitian. Terimakasih atas doa dan semangat yang diberikan kepada penulis.

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

8. Sahabat-sahabat tercinta Mayang, Emak Luluatul, Mila, Lifatin, Dear Dewandaru B14, dan Kosmate Sigura-gura V. 29 yang telah banyak membantu penulis selama melaksanakan penelitian. Kegiatan penelitian ini tidak akan dapat terselesaikan tanpa bantuan dari kalian semua teman-teman.
9. RELOIS 2011, terimakasih atas kebersamaannya selama ini, canda tawa, semangat, dukungan dan doa yang telah diberikan kepada penulis sangat berarti. Sukses buat kita semua.
10. Semua pihak yang mungkin tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang telah membantu dan memberikan semangat dalam menyelesaikan skripsi.

Dengan segala keterbatasan dan kekurangan, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak, dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, Agustus 2015

Penulis

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Pekanbaru, Riau pada tanggal 02 September 1993 sebagai putri kedua dari 4 bersaudara dari Bapak Posma Edison Tamba dan Ibu Rusmani Sinaga.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN 013 Muktisari Kabupaten Kampar Kecamatan Tapung Riau, kemudian melanjutkan ke SMP Swasta Asissi Siantar pada tahun 2005-2008. Pada tahun 2008-2011 penulis melanjutkan pendidikan jenjang menegah atas di SMA Budi Mulia Siantar dan tercatat sebagai mahasiswa Universitas Brawijaya, Malang pada tahun 2011 di Program Studi Agroekoteknologi melalui jalur SMPTN tulis. Pada tahun 2013 penulis tercatat sebagai mahasiswa minat Manajemen Sumberdaya Lahan, Jurusan Tanah Universitas Brawijaya Malang.

Penulis juga aktif di kepanitiaan Rohani KMK FP UB dan GATRAKSI jurusan tanah FP UB. Penulis tidak hanya aktif dibidang non akademik, dibidang akademik penulis pernah menjadi asisten praktikum Dasar Ilmu Tanah (2013) dan asisten praktikum Irigasi dan Drainase (2014-2015).

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR ISI

Halaman

RINGKASAN i

SUMMARY ii

KATA PENGANTAR iii

RIWAYAT HIDUP v

DAFTAR ISI vi

DAFTAR TABEL viii

DAFTAR GAMBAR ix

DAFTAR LAMPIRAN x

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 3

1.4 Hipotesis 4

1.5 Manfaat 4

1.6 Kerangka Penelitian 5

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Bakteri Endofit 6

2.2 Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* Tanaman Tebu 7

2.3 Pupuk Anorganik 10

2.4 Pupuk Hayati 11

2.5 Tanaman Tebu 12

2.6 Peranan Unsur Hara Nitrogen 15

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat 18

3.2 Alat dan Bahan 18

3.3 Rancangan Penelitian 18

3.4 Pelaksanaan Penelitian 19

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

3.5 Analisis Data 24

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Keberadaan Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dalam Jaringan Tanaman Tebu 25

4.2 Kandungan Hara N-total Tanah 27

4.3 Serapan Nitrogen Tanaman Tebu 29

4.4 Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Tebu..... 31

4.5 Berat Kering Tanaman Tebu 35

4.6 Hubungan Populasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan Kadar N-total Tanah dan Serapan N Tanaman Tebu..... 37

4.7 Hubungan Populasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan Pertumbuhan Tanaman Tebu 39

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan..... 43

5.2 Saran..... 44

DAFTAR PUSTAKA 45

LAMPIRAN..... 48

DAFTAR TABEL

Nomor **Halaman**

Teks

1. Keragamanan Endofit pada Tebu serta Fungsinya 7
2. Karakteristik *Gluconacetobacter diazotrophicus* 9
3. Perlakuan dalam Penelitian 19
4. Parameter, Metode dan Waktu Pengamatan Tanaman Tebu..... 21
5. Parameter, Metode dan Waktu Pengamatan Sifat Kimia Tanah 24
6. Analisis Korelasi Antar Parameter 37
7. Analisis Ragam Populasi Bakteri Endofit 51
8. Analisis Ragam Kandungan N-Total Tanah..... 51
9. Analisis Ragam Serapan N Tanaman Tebu 51
10. Analisis Ragam Tinggi Tanaman Tebu 51
11. Analisis Ragam Jumlah Daun Tebu 52
12. Analisis Ragam Jumlah Anakan Tebu..... 52
13. Analisis Ragam Berat Kering Bagian Atas Tebu 52
14. Analisis Ragam Berat Kering Akar Tanaman Tebu..... 52

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR GAMBAR

Nomor **Halaman**

Teks

1. Kerangka Penelitian 5
2. Tebu Varietas BL (Bululawang..... 14
3. Siklus NitrogenQ..... 17
4. Seri Pengenceran Bakteri 23
5. Pengamatan Koloni Bakteri Endofit di Bawah UV 25
6. Grafik Populasi Bakteri Endofit pada Perlakuan Dosis Pupuk N…... 26
7. Grafik Kadar N-total Tanah pada Perlakuan Dosis Pupuk N..... 28
8. Grafik Serapan N Tanaman Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N..... 30
9. Grafik Tinggi Tanaman Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N..... 31
10. Grafik Jumlah Daun Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N 33
11. Grafik Jumlah Anakan Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N..... 34
12. Berat Kering Tebu Bagian Atas (a) dan Berat Kering Akar (b 36

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor **Halaman**

Teks

1. Perhitungan Kebutuhan Pupuk NPK pada Penelitian 47
2. Denah Perlakuan Penelitian di Rumah Kaca..... 49
3. Analisis Ragam pada Masing-masing Parameter Penelitian..... 50
4. Komposisi Media LB *(Luria Bertani* 52
5. Analisis Awal Media Tanam 52
6. Persiapan Isolat Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrphicus* dan Aplikasi pada Tebu 54
7. Isolasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrphicus* dari Jaringan Daun Tanaman Tebu 55
8. Pertumbuhan Tanaman Tebu..... 56
9. Sifat Morfologis Tebu Varietas Bululawang..... 57
10. Cara Kerja Isolasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrphicus* dari Jaringan Daun Tanaman Tebu 58

repository.ub.ac.id
UNIVERSITAS BRAWIJAYA

I. PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Tebu *(Saccharum officinarum* L.*)* merupakan salah satu komoditas perkebunan yang memiliki peranan penting dalam perekonomian Indonesia, mengingat bahwa tebu digunakan sebagai bahan baku utama pembuatan gula. Kebutuhan gula dalam negeri selalu meningkat sejalan dengan pertambahan jumlah penduduk. Dalam 25 tahun terakhir, produktivitas usaha tani tebu menurun dari 96 ton menjadi 76 ton tebu per hektar (Arifin, 2008).

Penurunan produktivitas tebu dapat disebabkan oleh kondisi lahan yang kritis akibat penggunaan pupuk yang belum tepat dan efisien dalam meningkatkan pertumbuhan tebu. Pupuk didefinisikan sebagai material yang ditambahkan ke tanah dengan tujuan untuk melengkapi ketersediaan unsur hara. Kegiatan pemupukan merupakan salah satu hal yang tidak dapat dipisahkan dalam kegiatan usaha tani setiap budidaya tanaman. Dalam budidaya tebu, pemupukan juga merupakan hal yang sangat penting untuk dilakukan. Karena setiap 1 ton hasil panen tebu, terangkut 1,95 kg N; 0,30-0,82 kg P_2O_5 dan 1,17-6,0 kg K_2O yang berasal dari dalam tanah. (Hunsigi, 1993). Hal ini menunjukkan bahwa terjadi pengurasan unsur hara N, P, dan K dalam setiap pemanenan tebu.

Penggunaan pupuk anorganik yang berlebihan dan secara terus-menerus, dalam jangka panjang akan dapat menurunkan produktivitas tanah. Ekosistem tanah akan terganggu dan terjadi pemadatan tanah. Khususnya dalam penggunaan pupuk N, dianggap masih kurang efisien dalam lahan pertanian. Unsur hara N merupakan salah satu unsur hara yang memiliki sifat kelarutan yang cukup tinggi, sehingga kemungkinan untuk terjadinya kehilangan N lebih besar dibandingkan unsur hara lainnya, baik melalui pencucian, penguapan, dan mineralisasi. Nitrogen merupakan salah satu unsur hara makro primer yang sangat diperlukan oleh tanaman tebu. Peranan nitrogen bagi tanaman tebu adalah meningkatkan produksi dan kualitasnya, untuk pertumbuhan vegetatif membantu pertumbuhan tunas, daun, batang sehingga nantinya akan mempengaruhi produktivitas tebu (Soemarno, 2011).

Salah satu usaha yang dapat dilakukan untuk memenuhi kebutuhan nitrogen pada tanaman tebu yaitu dengan pengelolaan hara terpadu melalui penerapan pemupukan anorganik yang mencakup pemanfaatan pupuk hayati. Banyak masyarakat menganggap bahwa semua pupuk hayati berlaku untuk semua jenis tanaman. Padahal tidak demikian, karena mikroba yang ada didalam pupuk hayati mempunyai interaksi spesifik pada setiap jenis tanaman, misalnya pada tanaman tebu ditemukan bakteri endofit antara lain *Gluconacetobacter diazotrophicus, Azospirillium* sp, *Klebsiella* sp, *dan Pseudomonas* sp. Bakteri tersebut dapat membantu penambatan nitrogen. Selain itu, juga mampu menghasilkan *fitohormon Indole Acetic* (IAA) yang berfungsi sebagai hormon pertumbuhan bagi tanaman tebu (Wiwik, 2012).

Bakteri endofit merupakan bakteri yang hidup dalam jaringan tanaman tanpa menimbulkan gejala penyakit. Salah satu contoh bakteri endofit yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Bakteri endofit ini termasuk dalam kelompok bakteri penambat N, yang memiliki banyak peranan dalam menyediakan dan meyerap unsur hara bagi tanah dan tanaman khususnya nitrogen. Mikroba penambat N ada yang hidup bebas dan ada pula yang bersimbiosis. Bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* merupakan bakteri yang masuk ke dalam tanaman dan membentuk asosiasi nonsimbiotik (Yulianti, 2012)

Kemampuan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebagai pemfiksasi N, dapat dimanfaatkan dalam menurunkan kebutuhan pupuk nitrogen. Khususnya dalam pemupukan tebu, aplikasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dapat digunakan sebagai pupuk hayati untuk dapat menyediakan unsur hara N yang optimum bagi pertumbuhan tebu. Bockman *et al.* (1999) mengatakan bahwa dari hasil penelitian yang ada menunjukkan bahwa efisiensi pemupukan N masih sangat rendah. Hara N yang diserap oleh tanaman hanya berkisar antara 30-50 % dari hara N yang diberikan melalui pupuk. Oleh sebab itu diperlukan suatu upaya untuk meningkatkan efisiensi pemupukan N, khususnya pada tanaman tebu.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui dan mempelajari pengaruh perlakuan beberapa dosis pupuk N seperti pupuk ZA dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* terhadap kadar hara nitrogen dan pertumbuhan tanaman tebu. Sehingga melalui teknik pemupukan tersebut penyerapan unsur hara nitrogen dapat lebih efisien lagi dalam mendukung pertumbuhan optimum bagi tanaman tebu.

1.2. Rumusan Masalah

1. Bagaimana pengaruh perlakuan dosis pupuk N terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada tanaman tebu ?
2. Bagaimana pengaruh perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* terhadap kadar hara nitrogen ?
3. Bagaimana respon pertumbuhan tanaman tebu pada perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* ?

1.3. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh perlakuan dosis pupuk N terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada tanaman tebu
2. Menganalisis pengaruh perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* terhadap kadar hara nitrogen
3. Mengetahui respon pertumbuhan tanaman tebu setelah perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

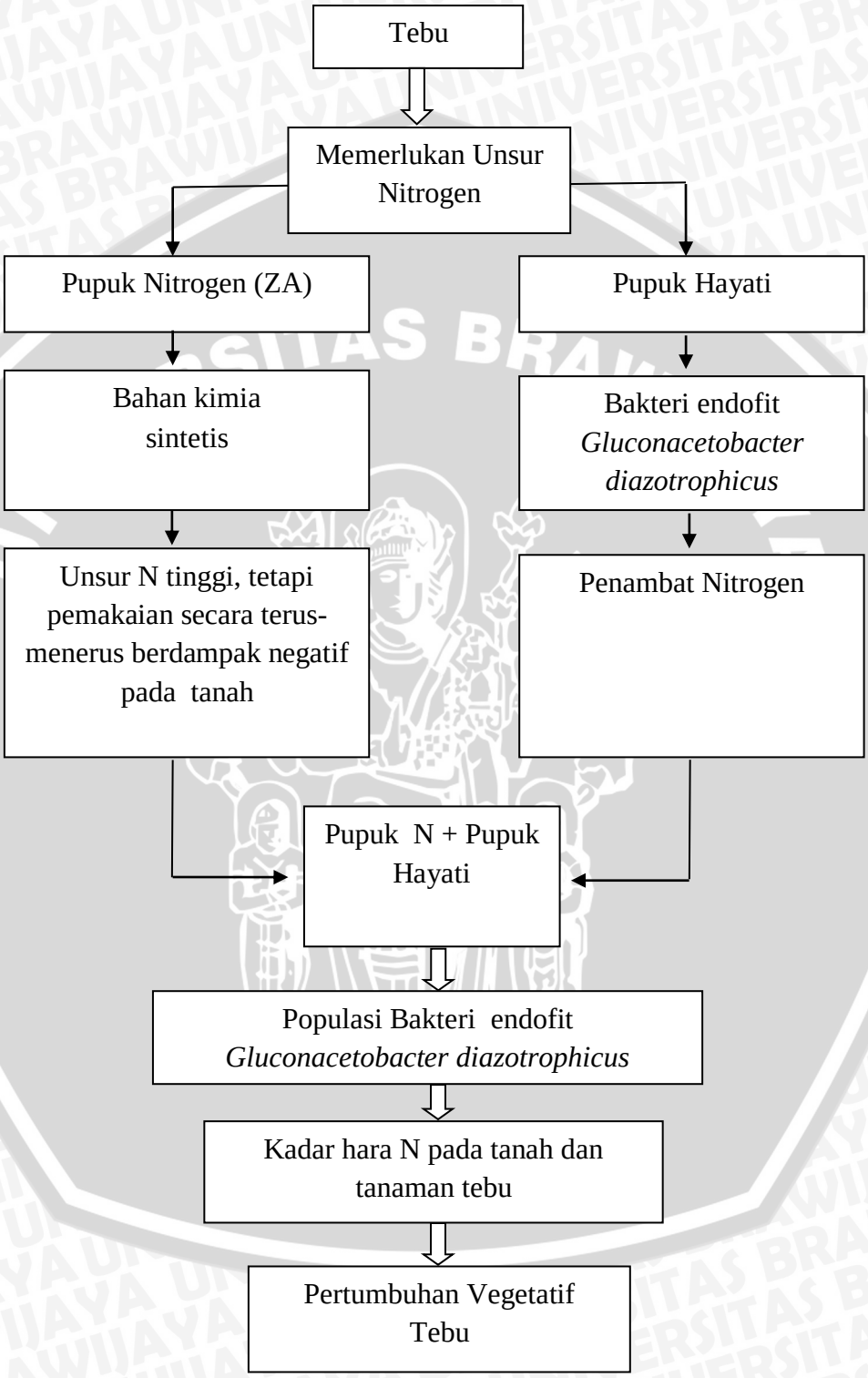
1.4. Hipotesis

1. Perlakuan dosis pupuk N berpengaruh positif terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*
2. Perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* berpengaruh positif terhadap kadar hara nitrogen
3. Perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dapat mendukung pertumbuhan optimum tanaman tebu

1.5. Manfaat

Memperoleh informasi untuk mendukung pertumbuhan optimum tanaman tebu melalui pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebagai pupuk hayati dalam teknik pemupukan N sehingga dapat meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk anorganik yang berlebih.

1.6. Kerangka Penelitian



Gambar 1. Kerangka Penelitian

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri Endofit

Pemeliharaan kesehatan dan kesuburan tanah merupakan hal yang paling penting dalam sistem pertanian. Pemanfaatan agen hayati berupa bakteri tanah merupakan salah satu cara yang dapat mendukung sistem keberlanjutan pada tanah. Beragam jenis bakteri memiliki peranan dan fungsinya masing-masing dalam menyediakan dan meningkatkan kesuburan tanah. Salah satu jenis bakteri yang dikenal yaitu bakteri endofit. Bakteri endofit merupakan mikroorganisme yang terintegrasi dengan tanaman, dan hidup dalam jaringan tanaman bahkan dapat berkontribusi dalam memenuhi kebutuhan nutrisi tanaman (Yulianti, 2012).

Bakteri endofit memiliki kemampuan dalam memfiksasi N. Ditinjau dari aspek ekologi, bakteri endofit penambat N dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok yaitu bakteri endofit fakultatif dan bakteri endofit obligat. Bakteri endofit fakultatif merupakan bakteri yang berproliferasi didalam jaringan tanaman, tetapi tidak membentuk endosimbion didalam sel tanaman. Potensi N yang disumbangkan oleh bakteri endofit lebih besar dari bakteri non endofit, karena N yang berhasil ditambat tidak ada yang hilang. Kolonisasi bakteri endofit dalam jaringan tanaman mampu mengeksploitasi substrat karbon yang disuplai oleh tanaman, contoh bakteri yang termasuk dalam kelompok bakteri endofit fakultatif yaitu *Anabaena azolaee* (Saraswati *et al*., 2014). Sedangkan kelompok bakteri endofit obligat merupakan bakteri yang hanya mengkolonisasi bagian dalam akar dan bagian luar tanaman dan hanya dapat di isolasi dari tanaman inang, contohnya *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Baldani *et al*., 1997).

Endofit umumnya berasal dari golongan jamur dan bakteri yang hidup pada tanaman dengan berbagai bentuk hubungan seperti simbiosis mutualistik, komensalitik dan parasitik (Aly *et al.*, 2011). Simbiosis endofit dengan tanaman mampu memicu inangnya mengaktifkan sistem pertahanan tanaman. Terdapat tiga teori yang menjelaskan hal tersebut. Pertama, endofit menghasilkan senyawa oksigen reaktif untuk mengoksidasi membran sel inang agar mampu meningkatkan ketahanannya terhadap tekanan yang menimpanya. Kedua, endofit merupakan

mikroorganisme yang paling banyak menghasilkan berbagai macam senyawa antioksidan, asam fenol dan derivatnya yang berperan dalam meningkatkan ketahanan terhadap tekanan luar. Ketiga, simbiosis endofit dengan tanaman mampu meningkatkan adaptasi tanaman terhadap lingkungan yang kurang menguntungkan.

Beberapa jenis bakteri endofit telah diketahui berperan penting dalam menunjang vitalitas tanaman. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri endofit berfungsi sebagai penambat nitrogen dan juga memiliki potensi sebagai agensia hayati untuk peningkatan pertumbuhan tanaman (Suman *et al.*, 2008). Bakteri endofit biasanya masuk pertama kali melalui perakaran sekunder dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektiase. Bakteri kemudian berkoloni, masuk dan menyebar kedalam jaringan tanaman. Kolonisasi endofit ini merupakan suatu proses aktif yang melibatkan kontrol dari bakteri maupun tanaman, sehingga kesesuaian bakteri endofit dengan tanaman merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam setiap aplikasi bakteri endofit (Wardani, 2009). Kelompok bakteri endofit yang berperan sebagai agen hayati cukup banyak, antara lainnya dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Tabel 1).

Tabel 1. Keragaman Endofit pada Tebu serta Fungsinya (Yulianti, 2012)

No	Jenis Endofit	Fungsi
1.	*Burkholderia* sp.	Agensi hayati (anti jamur dan anti bakteri, salah satunya pirol-nitrin)
2.	*Epicoccum nigrum*	Perangsang pertumbuhan akar dan agensia hayati untuk pathogen *F. verticillioides.*
3.	*Azospirillium*	Pemfiksasi N_2
4.	*Gluconacetobacter diazotrophicus*	Pemfiksasi N_2
5.	*Herbaspirillium rubrisubalbicans*	Pemfiksasi N_2

2.2. Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada Tanaman Tebu

Pada awalnya bakteri ini disebut dengan *Saccharobacter nitrocaptans* dan kemudian diklasifikasikan dalam bakteri asam asetat dengan nama *Acetobacter diazotrophicus* yang kemudian sekarang dikenal dengan *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan filum *Proteobacteria*, kelas *Alphaproteobacteria*, order *Rhodospirillales*, keluarga *Acetobacteraceae*, dan genus *Gluconacetobacter*. *Gluconacetobacter diazotrophicus* adalah bakteri Gram-negatif, tidak membentuk

spora dan nodul, berperan dalam penambatan nitrogen. Bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* termasuk dalam kelompok bakteri aerob obligat dengan sel berukuran 0,7-0,9 µm. Bentuk sel ada yang tunggal, berpasangan atau membentuk struktur seperti rantai. *Gluconacetobacter diazotrophicus* juga merupakan bakteri yang mampu tumbuh pada tingkat pH 3,0. Namun pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 5,5 (Eskin *et al.*, 2005). Karakteristik lain yang dimiliki oleh bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*, menurut Yulianti (2012) mengatakan bahwa *Gluconacetobacter diazotrophicus* merupakan bakteri aerobik yang mampu hidup dalam 30% sukrosa, memproduksi asam, membentuk koloni berlendir dan menghasilkan warna kuning jika ditumbuhkan pada media yang mengandung indikator. Karakter lain dari bakteri ini adalah toleran terhadap pH rendah dan kandungan gula dan garam tinggi, memiliki aktivitas nitrogenase, serta toleran terhadap paparan ammonium.

Gluconacetobacter diazotrophicus merupakan salah satu bakteri endofit yang ditemukan dalam tanaman tebu. Beberapa penelitian mengatakan bahwa bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki peranan dalam memfiksasi Nitrogen pada tebu. Karena dibeberapa lahan di Brazil dan juga India yang tidak diberi pupuk N produktivitasnya tetap stabil (Kennedy *et al.*, 2004). Sampai pada penelitian Suman *et al.* (2001) menemukan 0,02-3,86% bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari berbagai kultivar gula di India. Sampai akhirnya ditemukan bahwa *Acetobacter diazotrophicus* (Sinonim *Gluconacetobacter diazotrophicus*) berperan utama dalam penyediaan N_2 bagi tebu melalui kemampuannya memfiksasi N_2 dari udara. Adanya peranan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebagai pemfiksasi N_2 dapat dijadikan untuk memenuhi kebutuhan unsur hara nitrogen bagi tanaman tebu. Menurut pendapat Boddey *et al.* (2003), mengatakan bahwa bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* mampu meyediakan 60-80% kebutuhan N tanaman tebu.

Pada tanaman tebu, *Gluconacetobacter diazotrophicus* biasanya dapat diisolasi dari bagian akar, batang dan daun tanaman tebu. Hampir semua jenis bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari jaringan tumbuhan sehat juga ditemukan di rizosfer

tanaman tersebut kecuali beberapa jenis bakteri obligat endofit seperti *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan *Herbaspirillum rubrisubalbicans* yang hanya dapat ditemukan di dalam tebu dan tidak ditemukan di rizosfer (Baldani *et al.*, 1997).

Tabel 2. Karakteristik *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Eskin *et al.*, 2005)

Karakteristik	*Gluconacetobacter diazotrophicus*
Reaksi Gram	-
Motilitas	+
Fiksasi N_2	+
Katalase	+
Oksidasi	-
Pertumbuhan Pada Sumber Karbon	
Sukrosa	+
Glukosa	+
Sorbitol	+
Galaktosa	+
Xilosa	+
Etanol	+
Sodium Asetat	+
Gliserol	+
Arabinosa	+
Raffinosa	+
Fruktosa	+
Maltosa	+
Rhamnosa	+
Trehalosa	+
Cellobiosa	+
Melibiosa	+

2.3. Pupuk Anorganik

Pupuk anorganik atau pupuk buatan merupakan pupuk hasil industri atau pabrik yang mengandung unsur-unsur hara atau zat-zat makanan yang diperlukan tanaman. Pupuk-pupuk tersebut pada umumnya memiliki kandungan unsur hara yang tinggi. Fungsi utama pupuk anorganik adalah sebagai penambah unsur hara tanaman. Dalam aplikasinya, sering dijumpai beberapa kelebihan dan kelemahan pupuk anorganik. Beberapa manfaat dan keunggulan pupuk anorganik antara lain, mampu menyediakan hara dalam waktu relatif lebih cepat, menghasilkan nutrisi tersedia yang siap diserap tanaman, kandungan jumlah nutrisi lebih banyak, tidak berbau menyengat, praktis dan mudah diaplikasikan. Sedangkan kelemahan dari pupuk anorganik adalah, harga relatif mahal, mudah larut, mudah hilang, dan menimbulkan polusi pada tanah apabila diberikan dalam dosis yang tinggi (Sutedjo, 2008)

Unsur yang paling dominan dijumpai dalam pupuk anorganik adalah unsur N, P, dan K. Sebagian besar N tanah berada dalam bentuk N-organik. Nitrogen dibebaskan dalam bentuk ammonium, dan bila lingkungan baik ammonium dioksidasikan menjadi nitrit kemudian nitrat (Leiwakabessy, 2004). Tanaman mengambil nitrogen terutama dalam bentuk NH_4^+ dan NO_3^-. Senyawa N digunakan tanaman untuk membentuk klorofil. Senyawa N juga berperan dalam memperbaiki pertumbuhan vegetatif tanaman. Tanaman yang tumbuh pada tanah yang cukup N berwarna lebih hijau. Gejala kekurangan N akan menyebabkan tanaman menjadi kerdil, pertumbuhan tanaman terbatas, daun menguning dan gugur. Gejala kelebihan N menyebabkan keterlambatan kematangan tanaman yang diakibatkan terlalu banyaknya pertumbuhan vegetatif, batang lemah dan mudah roboh serta mengurangi daya tahan tanaman terhadap penyakit (Hardjowigeno, 1995).

Pupuk Ammonium Sulfat sering dikenal dengan nama Zwavelzure Amoniak (ZA). Umumnya berupa kristal putih dan hampir seluruhnya larut air. Kadar N sekitar 20-21 % yang diperdagangkan mempunyai kemurnian sekitar 97 %. Kadar asam bebasnya maksimum 0.4 %. Sifat pupuk ini : larut air, dapat dijerap oleh koloid tanah, reaksi fisiologisnya masam, mempunyai daya mengusir Ca dari kompleks

jerapan, mudah menggumpal tetapi dapat dihancurkan kembali, asam bebasnya kalau terlalu tinggi meracun tanaman (Engelstad, 1997).

Pemakaian pupuk ZA telah lama dikenal di Indonesia. Data statistik menunjukkan pemakaian ZA sekitar 50-80 % dari semua jenis pupuk. Namun pemakaian pupuk ZA secara terus-menerus dan berlebihan dapat memberikan dampak negatif bagi kesuburan tanah sehingga menurunkan produksi tanaman. Hal tersebut dapat disebabkan karena pupuk ZA mempunyai reaksi masam. Namun karena telah diketahuinya pengaruh pemasaman tanah oleh pupuk ini dan *equivalent aciditynya* atau angka pengapuran untuk meniadakan kemasaman, maka penggunaan ZA tetap diperlukan. Konsumen terbanyak dalam pemakaian pupuk ZA sekarang adalah perkebunan-perkebunan tebu (Sutedjo, 2008).

2.4. Pupuk Hayati

Pupuk hayati (*biofertilizer*) adalah suatu bahan yang berasal dari jasad hidup kelompok fungsional mikroba tanah yang dapat berfungsi sebagai penyedia hara dalam tanah sehingga dapat tersedia bagi tanaman. Pupuk hayati sering disebut juga dengan pupuk mikroba karena mengandung inokulan berbahan aktif organisme hidup yang berfungsi menambat hara tertentu dalam tanah dan tanaman. Kelompok mikroba yang sering digunakan adalah mikroba-mikroba yang menambat N dari udara, mikroba yang malarutkan hara (terutama P dan K), dan mikroba-mikroba yang merangsang pertumbuhan tanaman (Simanungkalit, 2006).

Pemakaian pupuk hayati merupakan salah satu cara yang tepat dalam mengurangi dampak negatif dari penggunaan pupuk anorganik. Aplikasi pupuk hayati dapat dijadikan usaha dalam menuju pertanian ramah lingkungan untuk memperoleh produksi optimal tanpa merusak lingkungan baik secara fisik, kimia, biologi maupun ekologi. Mikroba tanah mempunyai peranan dalam berbagai proses, seperti dekomposisi bahan organik, mineralisasi senyawa organik, fiksasi hara, pelarut hara, nitrifikasi dan denitrifikasi. Sehingga dengan terpeliharanya keanekaragaman hayati, produktivitas lahan akan stabil dan berkelanjutan serta menghasilkan produksi hasil panen bermutu tinggi dan aman sebagai pangan (Sumarno, 2008). Berbagai jenis

mikroba mempunyai fungsi dan keefektifan yang berbeda-beda. Terdapat kelompok bakteri penambat N baik yang simbiotik maupun nonsimbiotik, bakteri pelarut fosfat, mikoriza, bakteri pereduksi sulfat, penghasil hormon pertumbuhan, dan perombak bahan organik. Pemanfaatan teknologi mikroba di bidang pertanian dapat meningkatkan fungsi mikroba indigenous dalam sistem produksi tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung (Saraswati, 2008).

Mikroorganisme dalam pupuk hayati yang digunakan dalam bentuk inokulan dapat mengandung hanya satu strain tertentu ataun monostrain tetapi dapat pula mengandung lebih dari satu strain atau multistrain. Strain-strain pada inokulan multistrain dapat berasal dari satu kelompok inokulasi silang atau lebih. Pada mulanya hanya dikenal inokulan yang hanya mengandung satu kelompok fungsional mikroba (pupuk hayati tunggal) tetapi perkembangan teknologi inokulan telah memungkinkan memproduksi inokulan yang mengandung lebih dari satu kelompok fungsional mikroba (Simanungkalit, 2006).

2.5. Tanaman Tebu

2.5.1 Karakteristik Tebu

Tanaman tebu tergolong tanaman perdu dengan nama latin *Saccharum officinarum* L. Di daerah Jawa Barat disebut Tiwu, di daerah Jawa Tengah dan Jawa Timur disebut Tebu atau Rosan. Tanaman tebu tumbuh didaerah tropika dan sub Tropika. Kondisi tanah yang baik bagi tanaman tebu adalah yang tidak terlalu kering dan tidak terlalu basah, selain itu akar tanaman tebu sangat sensitif terhadap kekurangan udara dalam tanah sehingga pengairan dan drainase harus sangat diperhatikan. Drainase yang baik dengan kedalaman sekitar 1 meter memberikan peluang akar tanaman menyerap air dan unsur hara pada lapisan yang lebih dalam sehingga pertumbuhan tanaman pada musim kemarau tidak terganggu. Pemilihan varietas tebu harus memperhatikan sifat-sifat varietas unggul yaitu, memiliki potensi produksi gula yang tinggi melalui bobot tebu dan rendemen yang tinggi, memiliki produktivitas yang stabil serta tahan terhadap hama penyakit. Bibit tebu dapat diambil dari batang tebu dengan 2-3 mata tunas yang belum tumbuh. Bibit ini disebut juga

dengan bibit stek batang/bagal. Cara lain yang kadang digunakan adalah dengan memakai pucuk batang tebu dengan dua atau lebih mata tunas, bibit ini disebut dengan bibit stek pucuk (Indrawanto, 2010).

Sistematika tanaman tebu (Puslitbangbun, 2010) adalah:

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledone
Ordo : Graminales
Famili : Graminae
Genus : Saccharum
Species : *Saccharum officinarum*

2.5.2 Syarat Tumbuh Tebu

Jika dilihat dari sifat fisik tanahnya, struktur tanah yang baik untuk pertanaman tebu adalah tanah yang gembur sehingga aerasi udara dan perakaran berkembang sempurna. Sedangkan tekstur tanah, yaitu perbandingan partikel-partikel tanah berupa lempung, debu dan liat, yang ideal bagi pertumbuhan tanaman tebu adalah tekstur tanah ringan sampai agak berat dengan kemampuan menahan air cukup dan porositas 30 %). Tanaman tebu dapat tumbuh dengan baik pada tanah yang memiliki pH 6 - 7,5, akan tetapi masih toleran pada pH tidak lebih tinggi dari 8,5 atau tidak lebih rendah dari 4,5. Tanaman tebu dapat tumbuh dengan baik di daerah dengan curah hujan berkisar antara 1.000 – 1.300 mm per tahun dengan sekurang-kurangnya 3 bulan kering. Distribusi curah hujan yang ideal untuk pertanaman tebu adalah: pada periode pertumbuhan vegetatif diperlukan curah hujan yang tinggi (200 mm per bulan) selama 5-6 bulan. Periode selanjutnya selama 2 bulan dengan curah hujan 125 mm dan 4 – 5 bulan dengan curah hujan kurang dari 75 mm/bulan yang merupakan periode kering. Periode ini merupakan periode pertumbuhan generatif dan pemasakan tebu (Sutardjo,1999)

2.5.3 Deskripsi Varietas BL (Bululawang)

Varietas Bululawang merupakan hasil pemutihan varietas yang ditemukan pertama kali di wilayah Kecamatan Bululawang, Malang Selatan. Melalui Surat Keputusan Menteri Pertanian tahun 2004, maka varietas ini dilepas resmi untuk digunakan sebagai benih bina. BL lebih cocok pada lahan-lahan ringan (geluhan/liat berpasir) dengan sistem drainase yang baik dan pemupukan N yang cukup. Sementara itu pada lahan yang berat dengan drainase terganggu tampak keragaan pertumbuhan tanaman sangat tertekan. BL memerlukan lahan dengan kondisi kecukupan air pada kondisi drainase yang baik. Varietas BL ini menyukai lahan yang ringan sampai geluhan daripada lahan yang berat. Varietas BL tersebut merupakan varietas yang selalu tumbuh dengan munculnya tunas-tunas baru atau disebut dengan sogolan. Sehingga potensi bobot tebu akan sangat tinggi karena apabila sogolan ikut dipanen akan menambah bobot tebu secara nyata (P3GI, 2013).

Gambar 2. Tebu Varietas BL (Bululawang)

Tebu varietas Bululawang merupakan varietas lokal dengan asal persilangan dari Bululawang-Malang Selatan. Varietas Bululawang memiliki sifat-sifat morfologis mulai dari batang, daun dan bentuk mata tunasnya (Lampiran 11).

2.6. Peranan Unsur Hara Nitrogen

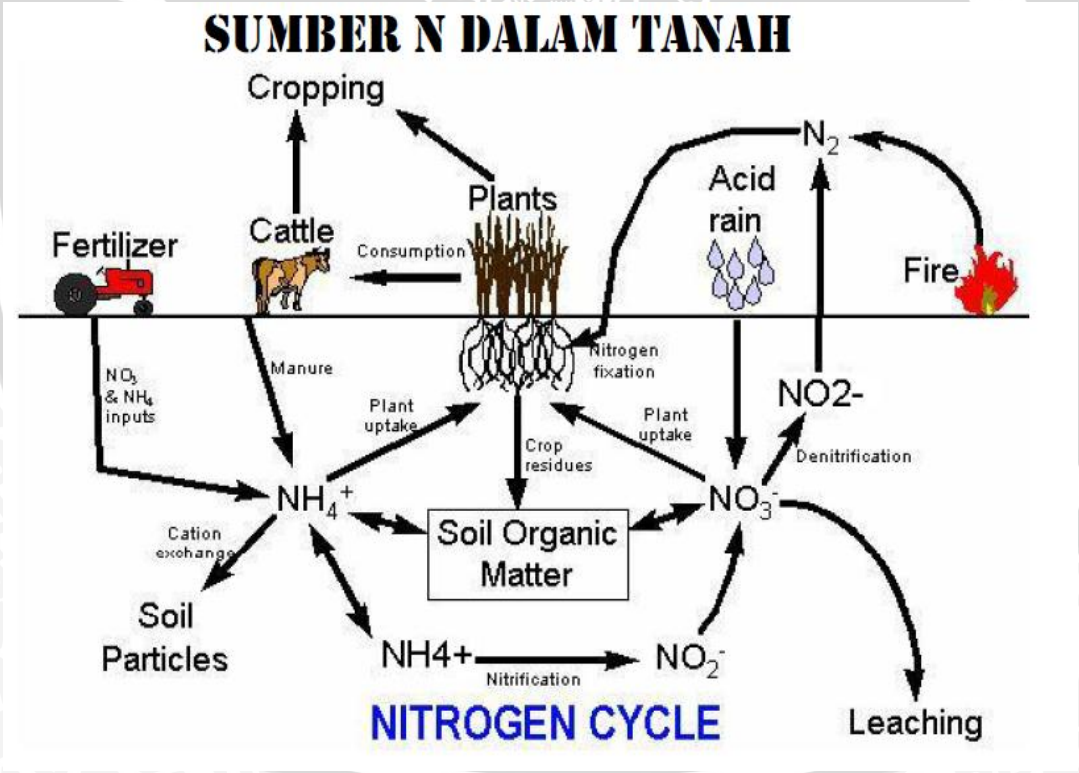
Nitrogen merupakan unsur hara yang utama bagi pertumbuhan tanaman, yang pada umumnya sangat diperlukan untuk pembentukan atau pertumbuhan bagian-bagian vegetatif tanaman, seperti daun, batang dan akar. Fungsi nitrogen yang selengkapnya bagi tanaman adalah untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman, dapat menyehatkan pertumbuhan daun, daun tanaman lebar dengan warna yang lebih hijau, meningkatkan kadar protein dalam tubuh tanaman, meningkatkan kualitas tanaman penghasil daun, meningkatkan perkembangbiakan mikroorganisme di dalam tanah (Sutedjo, 2008). Oleh sebab itu unsur nitrogen merupakan unsur hara yang paling universal dalam mendukung produksi tanaman yang optimum.

Senyawa nitrogen di dalam tanah terdapat dalam 2 bentuk. Nitrogen organik seperti protein, asam amino, urea dan nitrogen anorganik termasuk ammonium (NH_4^+), gas ammonia (NH_3^+), nitrit (NO_2^-), dan nitrat (NO_3^-). Dari kedua bentuk senyawa nitrogen tersebut ada yang larut dalam air dan ada yang tidak, ada yang mudah tercuci dan ada yang dapat diserap langsung oleh tanaman. Nitrogen didalam tanah terbentuk melalui reaksi fisika, kimia dan biologi yang kompleks dan disebut juga dengan siklus nitrogen (Sutedjo, 2008).

Nitrogen diserap oleh tanaman dalam bentuk NO_3^- (nitrat) atau NH_4^+ (ammonium). Kadar nitrogen rata-rata dalam jaringan tanaman adalah 2% - 4% berat kering. Dalam tanah, kadar nitrogen sangat bervariasi tergantung pada pengelolaan dan penggunaan lahan tersebut. Untuk pertumbuhan yang optimum selama fase vegetatif, pemupukan N harus diimbangi dengan pemupukan unsur lain. Sebagai contoh, penyerapan nitrat untuk sintesis menjadi protein dipengaruhi ketersediaan K^+ (Roesmarkam dan Yuwono, 2002).

Hasil penelitian Hasanudin *et al.* (2006) menunjukkan bahwa peningkatan dosis pupuk N dari 0–13,75 g/tnm akan diikuti peningkatan serapan N rata-rata sebesar 1,17 g/tnm. Namun peningkatan dosis pupuk N lebih dari 13,75 g/tnm justru diikuti menurunnya serapan N oleh tanaman hingga 0,79 g/tnm. Hal ini diduga disebabkan oleh kejenuhan akibat pemupukan yang berlebihan sehingga akan menurunkan serapan dan efisiensi serapan N.

Pemupukan N dapat memperlebar helaian daun tebu dan dapat meningkatkan bobot tajuk tebu. Peningkatan pemberian pupuk N mampu meningkatkan panjang batang tebu sampai dicapainya dosis pupuk N optimal. Total bobot segar tebu, bobot kering dan hasil bobot tebu meningkat dengan penambahan pemberian pupuk N. Peningkatan bobot tebu lebih terlihat pada pemberian tambahan dosis disaat pemupukan pertama ialah pada awal pertumbuhan tebu. Sedangkan penambahan pupuk N beberapa bulan setelah tanam, tidak menunjukkan kenaikan bobot tebu. Untuk mengoptimalkan kebutuhan tanaman tebu akan hara N, dilakukan penambahan N melalui pemupukan. Sumber N dalam tanah ialah bahan organik. Unsur hara N selain diberikan melalui pupuk anorganik (ZA dan Urea) diberikan juga dalam bentuk pupuk organik (Sutedjo, 2008).



Gambar 3. Siklus Nitrogen

III. METODE PENELITIAN

3.1. Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan mulai dari Maret sampai dengan Mei 2015 yang dilakukan di rumah kaca P3GI (Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia) Pasuruan. Kegiatan analisis bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*, dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah P3GI Pasuruan. Kegiatan analisis sifat kimia tanah dilakukan di Laboratorium Kimia Tanah FP UB dan Laboratorium Kimia Tanah P3GI Pasuruan.

3.2. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain timbangan, baskom dan pengaduk untuk persiapan sampel tanah; polibag sebagai tempat penanaman tebu, *laminar air flow cabinet* (LAFC), inkubator, autoklaf, bunsen, timbangan analitik, oven, *shaker*, pipet mikro, mortar, pastel dan peralatan *glassware* untuk isolasi bakteri; ayakan 0,05 mm, mikropipet, gelas ukur, erlenmeyer, hotplate, timbangan, oven, dan peralatan *glassware* lainnya untuk analisis sifat kimia tanah.

Bahan yang digunakan antara lain, sebagai media biakan untuk bakteri adalah media LB *(Luria Bertani)*, bibit tebu varietas Bululawang sebagai bahan tanam, pupuk N (ZA), P (SP36) dan K (KCL) sebagai pupuk anorganik, bakteri endofit penambat nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Tanah P3GI dan merupakan hasil isolasi dari jaringan tanaman tebu yang dilakukan di P3GI sebagai pupuk hayati dan juga bahan-bahan kimia yang akan digunakan untuk kegiatan analisis sifat kimia tanah dan analisis bakteri.

3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 5 perlakuan. Masing-masing perlakuan diulang sebanyak 3 kali sehingga diperoleh 15 satuan percobaan. Perlakuan yang digunakan dalam penelitian disajikan pada (Tabel 3).

Tabel 3. Perlakuan dalam Penelitian

No	Perlakuan	Keterangan/Konversi Dosis (g/polibag)	Kode
1.	Kontrol	Media tanam tanah tanpa ada perlakuan pupuk dan aplikasi bakteri endofit	K0
2.	800 kg N/ha + bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*	N= 0,51 g *G.diazotrophicus* = 5 mL	P1
3.	600 kg N/ha + bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*	N= 0,38 g *G.diazotrophicus* = 5 mL	P2
4.	400 kg N/ha + bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*	N= 0,25 g *G.diazotrophicus* = 5 mL	P3
5.	200 kg N/ha + bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*	N= 0,12 g *G.diazotrophicus* = 5 mL	P4

Keterangan : N (ZA), perhitungan kebutuhan pupuk (Lampiran 1).

3.4. Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan pelaksanaan dalam penelitian ini meliputi persiapan media tanam, penanaman dan perawatan tebu, aplikasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*, pengamatan pertumbuhan vegetatif tebu, analisis jumlah koloni bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*, analisis tanah dan tanaman tebu serta penyusunan akhir hasil penelitian.

3.4.1 Persiapan Media Tanam

Media tanam yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tanah pasir yang diperoleh dari P3GI. Penanaman dilakukan dengan menimbang terlebih dahulu media tanam sebanyak 5 kg untuk masing-masing perlakuan. Kemudian dimasukkan ke dalam polibag dan ditempatkan pada rumah kaca P3GI. Setelah persiapan media tanam sudah selesai, dilanjutkan dengan pemberian pupuk NPK sesuai dengan dosis yang telah ditentukan pada masing-masing perlakuan (Lampiran 1).

3.4.2 Penanaman dan Perawatan Tebu

Bibit tebu yang digunakan untuk penelitian yaitu varietas Bululawang. Bibit tebu yang ditanam pada polibag berupa bagal dengan satu mata tunas yang sebelumnya telah disemaikan. Penanaman tebu dilakukan dengan cara bibit tebu yang sebelumnya telah disemaikan kemudian dipindahkan kedalam polibag berukuran 5 kg. Setelah pemindahan selesai, kemudian diberi perlakuan sesuai dengan perlakuan yang sebelumnya telah ditetapkan dalam penelitian, dapat dilihat pada (Tabel 3). Setelah penanaman dan perlakuan sudah selesai dilakukan kemudian dilakukan pengamatan pertumbuhan vegetatif tanaman tebu, meliputi tinggi tanaman, jumlah daun dan jumlah anakan. Perawatan yang dilakukan selama penanaman tebu meliputi penyiraman sebanyak 250 mL air dengan tujuan untuk memenuhi kebutuhan air pada tanaman. Jika terdapat gulma yang tumbuh dan menganggu tanaman tebu maka akan dicabut dan dibuang secara manual. Pengendalian hama dan penyakit tanaman tidak menggunakan pestisida melainkan dilakukan secara manual.

3.4.3 Aplikasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada Tebu

3.4.3.1 Persiapan Kultur Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang diperoleh dari Laboratorium Biologi Tanah P3GI dan merupakan hasil isolasi dari jaringan tebu varietas PS 851 umur 8-9 bulan yang merupakan salah satu koleksi tebu di P3GI Pasuruan. Isolat bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* telah mengandung gen *Green Fluourescent Protein* (GFP) yang digunakan sebagai penanda molekuler bakteri.

Isolat bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan penanda GFP ditumbuhkan dalam media *Luria Bertani* (LB) 100 mL yang telah mengandung Kanamicyn 50 µg/mL dan Riffampicyn 50 µg/mL, kemudian di *shaker* selama 24 jam. Suspensi bakteri tersebut disentrifus dengan kecepatan 6000 rpm selama 14 menit. Supernatan hasil sentrifus dibuang kemudian peletnya dilarutkan dalam 60 mL akuades steril kemudian dihomogenkan menggunakan vortex.

3.4.3.2 Inokulasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada Tebu

Inokulasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dilakukan di daerah sekitar perakaran tanaman tebu. Suspensi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebanyak 60 mL tersebut dibagi menjadi 5 mL untuk diaplikasikan pada masing-masing perlakuan. Sehingga sebanyak 5 mL suspensi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* diberikan disekitar akar tanaman tebu secara merata.

3.4.4 Pengamatan Tanaman Tebu

Pengamatan pada tanaman tebu (*Saccharum officinarum* L.) varietas Bululawang terdiri dari pengamatan pertumbuhan vegetatif yang dilakukan secara non-destruktif dan pengamatan serapan N pada tebu dengan metode Kjeldahl. Parameter pengamatan yang dilakukan pada tanaman tebu dapat dilihat pada tabel dibawah ini (Tabel 4).

Tabel 4. Parameter, Metode dan Waktu Pengamatan Tanaman Tebu

Parameter Pengamatan	Metode Pengamatan	Waktu Pengamatan
Tinggi Tanaman	Non- destruktif	1, 2, 3 BST
Jumlah Daun	Non- destruktif	1, 2, 3 BST
Jumlah Anakan	Non- destruktif	1, 2, 3 BST
Serapan N	Destruktif (Kadar N x BK Tanaman)	3 BST

Keterangan : BST = Bulan Setelah Tanam, BK= Berat Kering

Pengukuran serapan N pada tanaman tebu dilakukan dengan pemanenan tebu setelah tebu berumur 3 bulan. Serapan N diukur pada jaringan daun tebu yang dilakukan dengan cara mengambil daun dari setiap tebu yang secara visual memiliki keragaan paling baik dibandingkan dengan daun lainnya yaitu pada helai daun keempat yang telah membuka sempurna. Kemudian dikeringkan dalam oven selama 48 jam pada suhu 60 °C. Sampel yang telah kering digiling kemudian dianalisis kandungan hara nitrogennya.

Pengamatan tinggi tanaman dilakukan dengan cara melakukan pengukuran mulai dari atas permukaan tanah tanaman tebu sampai dengan pucuk daun terpanjang. Jumlah anakan diamati dengan cara menghitung secara manual jumlah anakan yang

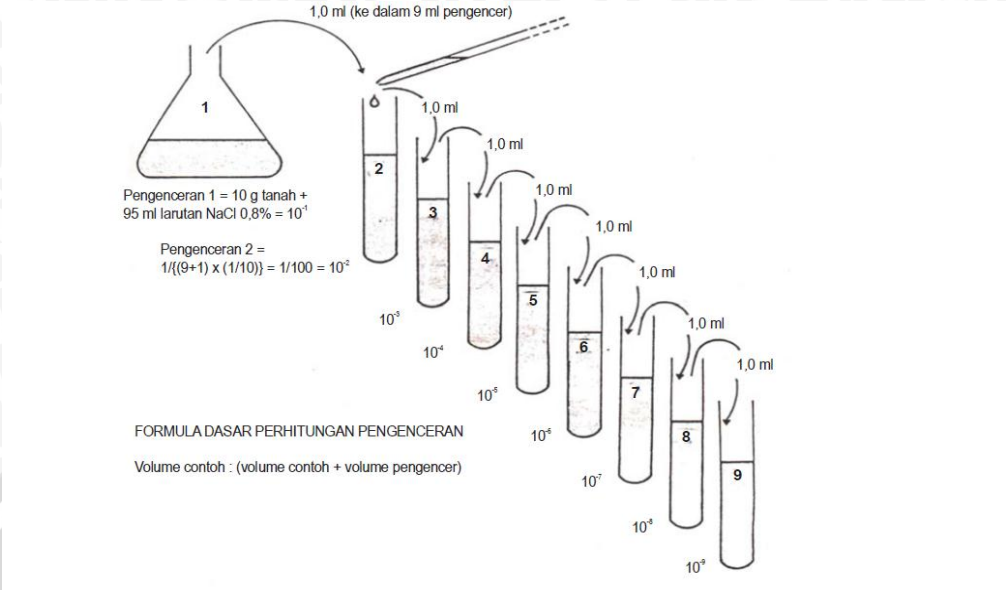
tumbuh dalam satu polibag. Jumlah daun diamati dengan cara menghitung secara manual total jumlah helai daun yang ada pada polibag.

3.4.5 Analisis Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada Tebu

3.4.5.1 Isolasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Analisis keberadaan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dilakukan dengan cara isolasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dari jaringan tebu. Isolasi dilakukan pada jaringan daun tebu. Langkah awal yaitu dengan cara memotong daun ketiga tanaman tebu, pengambilan sampel daun 1 helai yang kemudian di cuci bersih dengan air mengalir. Selanjutnya sterilisasi dengan larutan *sodium hypochloride* 20% selama 20 menit dan dicuci kembali dengan aquades steril sebanyak 5 kali. Setiap sampel daun kemudian digerus dengan menggunakan mortar dan pastel yang sudah steril. Setiap sampel daun hasil penggerusan kemudian diambil sarinya untuk dibuat seri pengenceran 10^1-10^3 dalam aquades steril 9 mL. Sebanyak 1 mL suspensi bakteri dari pengenceran tersebut diinokulasikan kedalam media LB *(Luria Bertani)* dan diinkubasi selama 2 hari. Pengamatan terhadap koloni bakteri dilakukan dibawah illuminator UV dan dihitung jumlah bakteri yang menunjukkan warna pendar hijau.

Teknik yang banyak digunakan untuk menghitung total mikroba tanah adalah metode agar cawan. Metode agar cawan biasa disebut juga cawan pengenceran (*dilution-plate* atau *dilution-count*). Prinsip dasar metode cawan pengenceran adalah tiap sel mikroba yang hidup dalam suspensi akan berkembang dan membentuk suatu koloni dalam kondisi lingkungan yang sesuai. Asumsi utama dari metode agar cawan ini adalah penyebaran contoh merata, medium tumbuh cocok dengan mikroba, dan tidak ada interaksi antara mikroba pada medium. Hitungan total yang diperoleh menunjukkan jumlah sel yang berkembang pada medium yang dipakai pada kondisi inkubasi tertentu.



Gambar 4. Seri Pengenceran Bakteri

3.4.5.2 Penyebaran dan Penghitungan Populasi Bakteri

Penghitungan jumlah populasi bakteri dilakukan setelah 2 hari inkubasi dengan cara menghitung jumlah populasi yang tumbuh pada media pada setiap pengencerannya. Populasi dihitung menggunakan satuan CFU *(Colony Forming Unit)*. Untuk biakan bakteri ada 2 macam, yaitu media cair dan media padat. Media padat pada umumnya berupa padatan gel, seperti agar, dimana nutrisi dicampurkan pada agar, sedangkan media cair nutrisinya terlarutkan dalam air. Dalam penelitian menggunakan media padat berupa media LB (*Luria Bertani*).

Media LB *(Luria Bertani)* dibuat dengan cara menimbang semua bahan yang akan digunakan sesuai dengan komposisi yang telah ditentukan. Awalnya untuk pembuatan media LB 2 Lt, bahan-bahan yang diperlukan yaitu 20 gram Trypton, 10 gram yeast extract, 10 gram NaCl ditimbang dengan menggunakan neraca analitik kemudian bahan tersebut dimasukkan ke dalam gelas beker 2 L dan ditambah dengan aquades sebanyak 2000 mL. Kemudian diaduk dengan menggunakan *magnetic stirrer* diatas *hotplate* sampai homogen dan pH diatur menggunakan pH meter sampai mencapai pH 7. Jika pH kurang dari 7 maka ditambahkan NaOH hingga pH mencapai 7, sedangkan jika pH melebihi 7 maka ditambahkan HCl hingga mencapai pH 7. Setelah itu media dibagi ke dalam 8 erlemenyer 500 mL (@250 mL/erlenmeyer) dan

ditambahkan agar teknis 5 gram setiap erlenmeyer, lalu diaduk dan disterilisasi dalam autoclaf selama 15 menit setelah konstans. Selanjutnya media steril dituang ke cawan petri steril dalam keadaan aseptis di LAFC. Jika tidak langsung digunakan biasanya media disimpan dalam erlenmeyer di box inkubator. Ketika akan digunakan media tersebut terlebih dahulu dipanaskan di atas hotplate, lalu didinginkan atau didiamkan hingga hangat kuku kemudian media dapat dituangkan ke cawan petri di LAFC.

3.4.6 Analisis Tanah

Analisis tanah dalam penelitian ini dilakukan pada sampel tanah yang digunakan sebagai media tanam dengan tujuan untuk mendapatkan data pengamatan sifat kimia tanah. Kegiatan analisis tanah meliputi analisis N Total dengan menggunakan metode Kjeldahl, P tersedia dengan Bray 1, K tersedia dengan Flamefotometer, pH H_2O dengan menggunakan pH meter, dan C-organik dengan menggunakan metode Walkey and Black.

Tabel 5. Parameter, Metode dan Waktu Pengamatan Sifat Kimia Tanah

No	Parameter Pengamatan	Metode	Waktu Pengamatan
1	N-Total	Kjeldahl	Awal dan Akhir (3 BST)
2	P tersedia	Bray 1	Awal
3	K tersedia	Flamefotometer	Awal
4	pH H_2O	pH meter	Awal dan Akhir (3 BST)
5	C-Organik	Walkey and Black	Awal dan Akhir (3 BST)

Keterangan : BST= Bulan Setelah Tanam

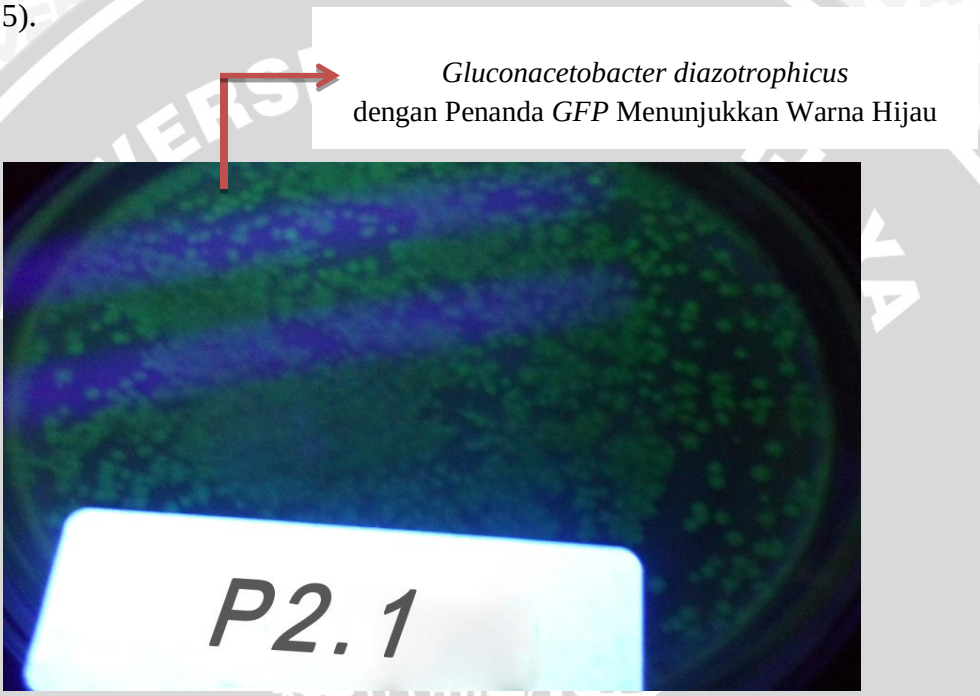
3.5. Analisis Data

Analisis data menggunakan anova (uji F) taraf 5% dengan software DSAASTAT 2013 untuk megetahui perbedaan antar perlakuan. Apabila berbeda nyata dilanjutkan dengan uji BNT 5%. Uji korelasi dan regresi menggunakan MS. EXCEL untuk mengetahui keeratan hubungan antar parameter penelitian.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Keberadaan Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dalam Jaringan Tanaman Tebu

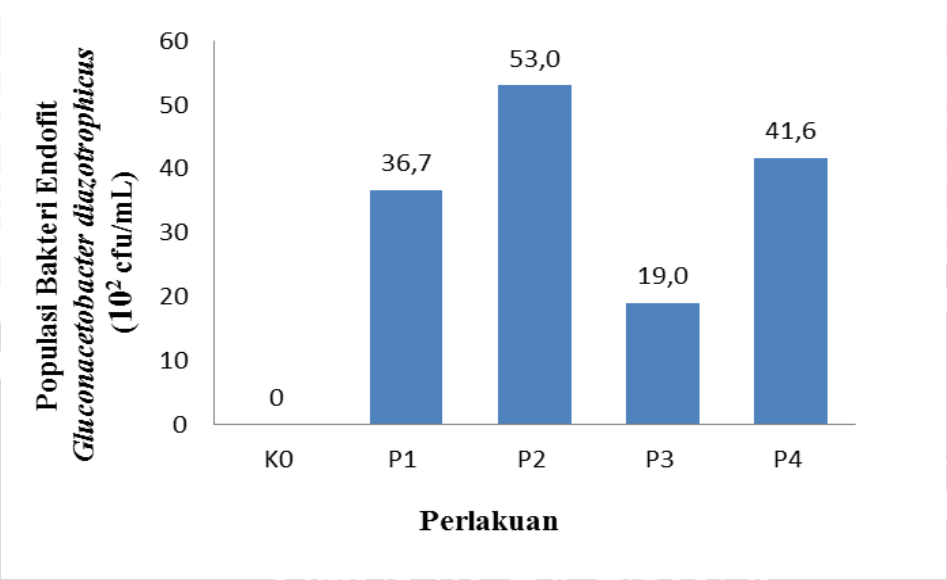
Keberadaan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dalam jaringan tanaman tebu diketahui dengan cara isolasi dari jaringan daun tanaman tebu. Pengamatan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dibawah UV (Gambar 5).



Gambar 5. Pengamatan Koloni Bakteri Endofit di Bawah UV

Pengamatan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dilakukan dibawah UV dengan tujuan untuk mempermudah dalam mengamati keberadaan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dalam jaringan tanaman tebu. Bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* mempunyai *Green Fluourescent Protein* (GFP) sebagai penanda molekuler bakteri yang diinokulasikan ke tanaman tebu sehingga memudahkan dalam pengamatan pada saat isolasi. Bakteri yang menunjukkan pendaran hijau merupakan isolat bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang sebelumnya telah diaplikasikan pada tanaman tebu.

Analisis jumlah populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dalam jaringan tanaman tebu pada berbagai perlakuan dosis pupuk N menggunakan analisis ragam (Lampiran 3).



Gambar 6. Populasi Bakteri Endofit pada Perlakuan Dosis Pupuk N

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*) P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Analisis ragam menunjukkan bahwa perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tanaman tebu tidak berpengaruh nyata terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Lampiran 3). Namun inokulasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang diberikan pada tebu terbukti dapat masuk dalam jaringan tanaman tebu. Hal ini bisa dilihat dari setiap perlakuan yang diberikan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki nilai populasi masing-masing dalam perlakuannya, meskipun dengan jumlah yang berbeda-beda antar perlakuannya. Masuknya bakteri endofit dalam jaringan tanaman dapat dipengaruhi oleh adanya bakteri endofit residen dalam tebu. Bakteri endofit residen dapat menjadi pembatas dalam meningkatan jumlah bakteri endofit inokulan untuk dapat masuk dan memberikan pengaruh bagi tebu (Dong, 1994). Kolonisasi endofit merupakan suatu proses aktif yang melibatkan kontrol dari bakteri maupun tanaman, sehingga

kesesuaian bakteri endofit dengan tanaman merupakan faktor yang harus diperhatikan dalam setiap aplikasi bakteri endofit (Wardani, 2009).

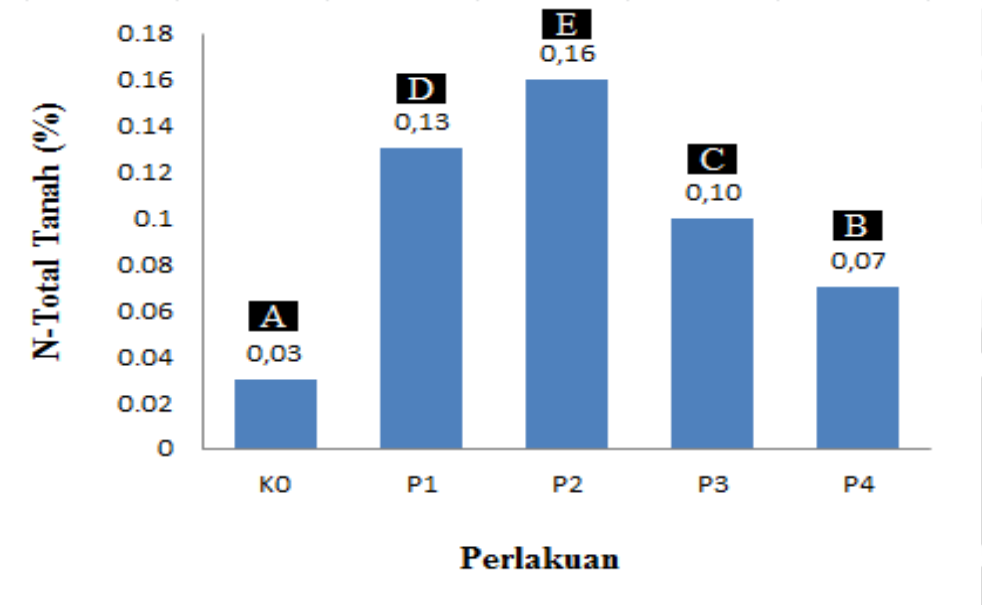
Berdasarkan grafik populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* (Gambar 6) diketahui bahwa populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan P2 (600 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki jumlah populasi yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya yaitu 53,0 x 10^2 cfu/mL. Sedangkan jumlah bakteri awal yang diinokulasikan sekitar 80 x 10^{11} cfu/mL. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penurunan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* ketika isolasi. Perbedaan dosis pemupukan N juga berpengaruh terhadap populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Hasil tersebut menunjukkan bahwa penurunan dosis pupuk N dapat meningkatkan populasi bakteri, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata. Pernyataan ini didukung oleh (Suman *et al.,* 2008) yang mengatakan bahwa aplikasi pemupukan N dapat menyebabkan menurunnya jumlah *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Karakteristik bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yaitu memiliki asosiasi dengan tanaman tebu yang sering dikenal dengan bakteri diazotrof.

Varietas tebu sangat mempengaruhi efektivitas asosiasi bakteri diazotrof endofit demikian juga dengan pemupukan N. Tebu yang diberi perlakuan dengan dosis pupuk N yang tinggi dapat menjadi penghambat dalam kemampuannya untuk berasosiasi dengan bakteri diazotrof endofit (Suman *et al.,* 2008). Oleh sebab itu, hubungan dan kesesuaian antara varietas tebu dengan bakteri endofit yang diaplikasikan merupakan hal yang sangat penting untuk diperhatikan guna meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman.

4.2. Kandungan Hara N-total Tanah

Analisis sifat kimia tanah yaitu analisis N-total tanah yang dilakukan pada media tanam tebu setelah aplikasi perlakuan dosis pupuk N dan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Peranan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebagai penambat nitrogen dapat diketahui dari nilai persentasi (%)

hara N-total tanah. Analisis kandungan hara N-total tanah pada masing-masing perlakuan dosis pupuk N menggunakan analisis ragam (Lampiran 3).



Gambar 7. Kadar N-Total Tanah pada Perlakuan Dosis Pupuk N

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*) , P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Perlakuan dosis pupuk N dan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada tanaman tebu varietas Bululawang berpengaruh nyata terhadap kadar N-total tanah (Lampiran 3). Diketahui bahwa terjadi peningkatan kadar N-total tanah pada perlakuan yang diberikan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Kandungan nitrogen didalam tanah berhubungan dengan fiksasi nitrogen oleh bakteri. Fiksasi nitrogen dapat dilakukan oleh bakteri simbiotik dan bakteri non simbiotik. Bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* merupakan salah satu contoh bakteri non simbiotik yang memiliki aktivitas nitrogenase (Yulianti, 2012). Adanya aktivitas nitrogenase dapat membantu dalam proses fiksasi nitrogen sehingga dapat mengikat nitrogen tanah dan tersedia bagi tanaman.

Berdasarkan analisis kadar N-total tanah diketahui bahwa perlakuan P2 (600 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki kadar N-total tanah yang lebih tinggi daripada perlakuan lainnya (Gambar 7). Neraca N dalam tanah

dipengaruhi oleh adanya penambahan dan kehilangan N dalam tanah. N dapat berasal dari hujan, bahan organik, fiksasi dari udara dan pemupukan. Sumber-sumber N tersebut akan mengalami serangkaian proses dekomposisi dan mineralisasi yang kemudian akan masuk dan meresap kedalam tanah. Nitrogen merupakan salah satu unsur hara yang memiliki sifat kehilangan yang tinggi baik dari pencucian, denitrifikasi maupun volatilisasi. Sehingga peran mikroba tanah seperti bakteri penambat N diharapkan dapat membantu persediaan N dalam tanah melalui penambatan dan pengikatan nitrogen.

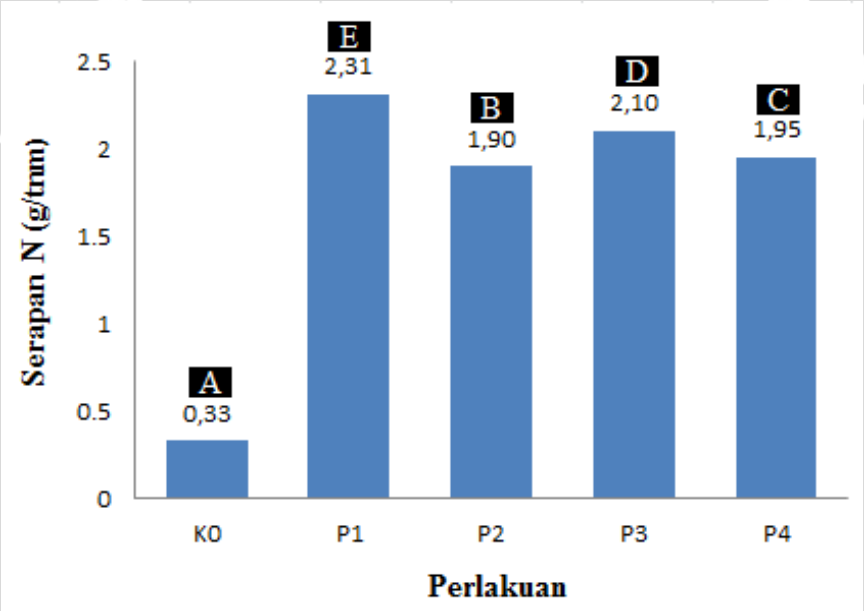
Danapriatna (2010) mengatakan bahwa proses penambatan nitrogen secara biologis oleh mikroorganisme merupakan faktor penting untuk masuknya molekul nitrogen kedalam sikus nitrogen dialam. Penambatan nitrogen dapat dilakukan oleh bakeri simbiotik maupun bakteri non simbiotik. Hasil tambatan nitrogen oleh bakteri nonsimbiotik aerob lebih tinggi daripada hasil tambatan oleh bakteri nonsimbiotik anaerob. Hal ini berkaitan dengan jumlah energi dalam bentuk ATP yang dihasilkan bakteri aerob lebih banyak daripada bakteri anaerob.

4.3. Serapan Nitrogen Tanaman Tebu *(Saccharum officinarum* L.*)*

Serapan nitrogen tanaman tebu dilakukan pada saat tebu berumur 3 bulan. Analisis serapan nitrogen tanaman merupakan salah satu metode untuk mengetahui jumlah nitrogen yang dapat diserap oleh tanaman. Untuk mengetahui serapan nitrogen pada masing-masing perlakuan dosis pupuk N digunakan analisis ragam (Lampiran 3).

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tebu varietas Bululawang memberikan pengaruh nyata terhadap serapan N tanaman tebu. Diketahui bahwa perlakuan yang diberikan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dapat meningkatkan serapan N bagi tanaman tebu jika dibandingkan dengan perlakuan tanpa bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus.* Analisis serapan N jaringan tanaman tebu diakukan untuk mengetahui kecukupan hara bagi tebu, khususnya pada jaringan daun karena daun merupakan tempat deposit N utama (Harold, 1952).

Nilai kandungan hara nitrogen pada daun tebu dibedakan atas empat kategori. Nitrogen dengan nilai kurang dari 1,4 % termasuk dalam kategori rendah, 1,4–1,7 % termasuk kategori sedang, 1,7–2,0 % termasuk kategori tinggi dan jika lebih dari 2,0 % termasuk kategori nitrogen sangat tinggi (Soemarno, 2011). Berdasarkan analisis serapan N perlakuan yang diberikan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* mampu memenuhi kebutuhan N tanaman tebu. Diketahui dari nilai serapan nitrogen pada perlakuan yang diberi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* menunjukkan bahwa serapan N tanaman tebu termasuk dalam kategori tinggi dan sangat tinggi kecuali kontrol memiliki serapan nitrogen yang rendah.



Gambar 8. Serapan N Tanaman Tebu Umur 3 Bulan pada Perlakuan Dosis Pupuk N

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*) , P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

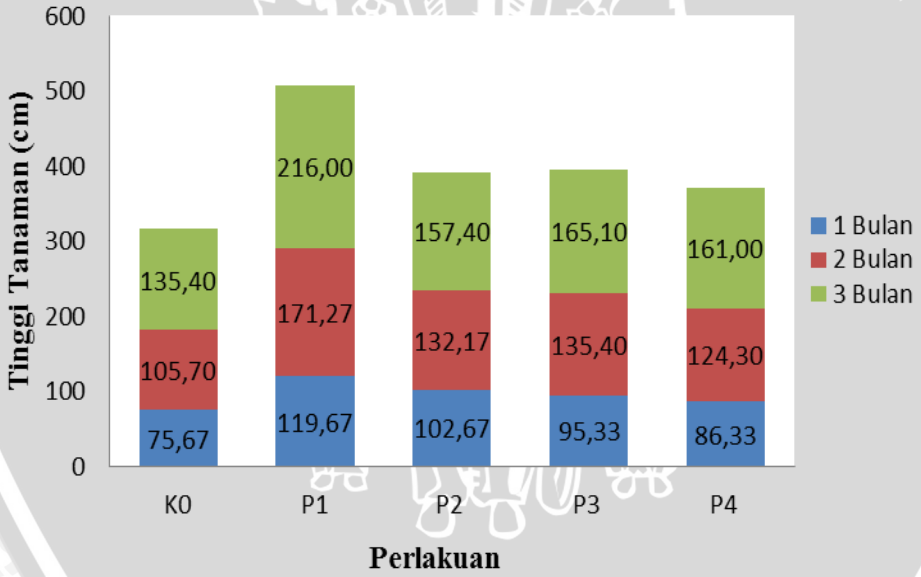
Berdasarkan analisis serapan N tanaman tebu diketahui bahwa perlakuan P1 (800 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki nilai serapan nitrogen lebih tinggi daripada perlakuan lainnya (Gambar 8). Penyerapan nitrogen oleh tanaman dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara dalam tanah. Kandungan nitrogen dalam tanah berpengaruh terhadap jumlah serapan nitrogen oleh tanaman. Salah satu

faktor yang mempengaruhi jumlah nitrogen dalam tanah yaitu melalui pemupukan nitrogen. Pemupukan merupakan salah satu cara untuk memenuhi kebutuhan hara pada tanaman. Peningkatan dosis pupuk N yang diberikan berpengaruh terhadap serapan N tanaman. Hasil penelitian Hasanudin *et al.*, (2006) menunjukkan bahwa peningkatan dosis pupuk N dari 0–13,75 g/tnm akan diikuti peningkatan serapan N rata-rata sebesar 1,17 g/tnm.

4.4. Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Tebu *(Saccharum officinarum* L.*)*

4.4.1 Tinggi Tanaman Tebu

Pengamatan tinggi tanaman tebu dilakukan secara non-destrutif. Analisis perbedaan tinggi tanaman tebu dengan pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N menggunakan analisis ragam (Lampiran 3).



Gambar 9. Tinggi Tanaman Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tebu varietas Bululawang belum memberikan

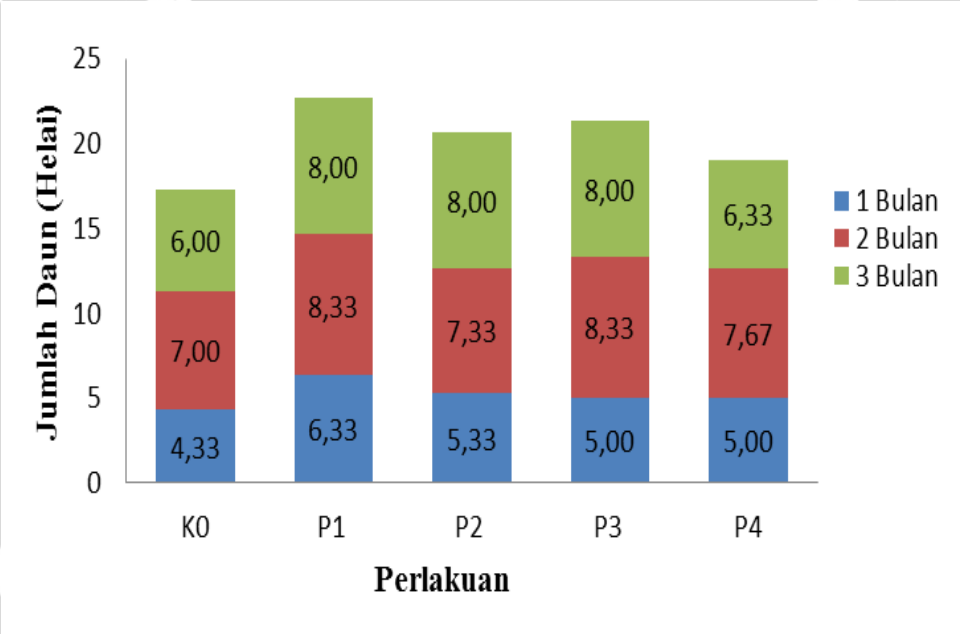
pengaruh nyata pada tinggi tanaman tebu. Hal tersebut dapat disebabkan oleh kandungan hara nitrogen dan bahan organik yang rendah pada media tanam. Media tanam yang digunakan pada penelitian memiliki nilai N-total tanah yang sangat rendah yaitu 0,06 % dan C-organik yang sangat rendah yaitu 0,74 % (Lampiran 4). Rendahnya unsur hara pada media tanam dapat menjadi penghambat bagi pertumbuhan tebu dan juga perkembangbiakan bakteri endofit. Karena hal ini akan menyebabkan terjadinya persaingan penyerapan hara antara tanaman tebu dan bakteri endofit. Sehingga kemampuan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* sebagai penambat N juga akan terhambat, dan akhirnya akan memperlambat mineralisasi N dalam tanah sehingga belum mencukupi kebutuhan nitrogen bagi tebu. Didukung juga oleh karakteristik dari varietas tebu Bululawang yang sangat memerlukan asupan N yang tinggi (P3GI, 2013).

Berdasarkan hasil pengamatan untuk tinggi tanaman tebu diketahui bahwa perlakuan P1 (800 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) lebih tinggi daripada perlakuan P2, P3, P4 dan juga kontrol (Gambar 9). Perbedaan tinggi tanaman tebu, dapat disebabkan karena adanya faktor pengurangan dosis pupuk N pada perlakuan. Seperti yang diketahui, bahwa unsur N merupakan salah satu unsur hara yang sangat berperan penting dalam mendukung pertumbuhan vegetatif tanaman (Sutedjo, 2008). Sehingga dapat diketahui bahwa tebu pada kontrol memiliki hasil yang kurang baik bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Tetapi bila di uji secara statistik tidak berbeda nyata (Lampiran 3). Hasil penelitian ini didukung dengan penelitian (Wardani, 2009) yang menyatakan bahwa pengurangan dosis pupuk N berpengaruh terhadap pertumbuhan tebu yaitu tinggi tanaman tebu.

4.4.2 Jumlah Daun Tanaman Tebu

Pengamatan terhadap jumlah daun tebu dilakukan secara non-destruktif. Analisis perbedaan jumlah daun tanaman tebu dengan pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N menggunakan analisis ragam (Lampiran 3).

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tebu varietas Bululawang hanya memberikan pengaruh yang nyata pada umur satu bulan tanaman tebu. Inokulasi bakteri pada perlakuan dosis pupuk N yang diberikan pada awal tanam memberikan respon yang cepat dan baik pada awal pertumbuhan tebu, khususnya jumlah daun tebu. Hal ini diketahui dari pengamatan jumlah daun tebu yang memberikan hasil yang berbeda nyata pada umur tebu satu bulan. Penyebaran bakteri dalam jaringan tanaman umumnya memerlukan waktu 7-10 hari setelah aplikasi (Reiss *et al.*, 1994). Sehingga setelah kurang lebih satu minggu setelah aplikasi pengaruh dari inokulasi bakteri sudah dapat memberikan respon yang baik bagi tanaman tebu.



Gambar 10. Jumlah Daun Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N

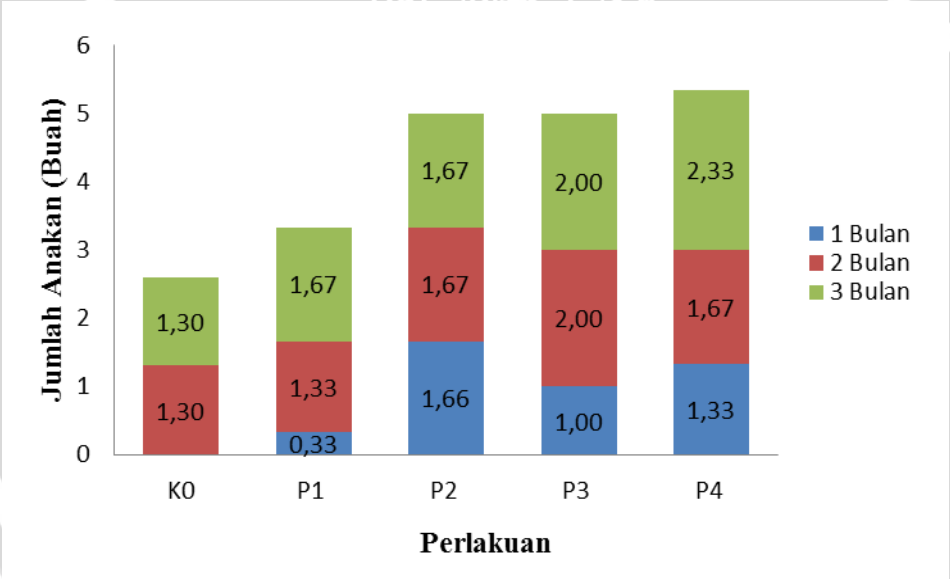
Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*) P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Berdasarkan hasil pengamatan untuk jumlah daun tanaman tebu pada umur satu bulan diketahui bahwa perlakuan P1 (800 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki jumlah daun yang lebih banyak daripada perlakuan P2, P3, P4 dan juga kontrol (Gambar 10). Namun untuk umur tebu dua sampai tiga bulan selanjutnya pertumbuhan jumlah daun pada masing-masing perlakuan tidak

berbeda nyata. Perbedaan pertumbuhan pada setiap tanaman dapat terjadi karena faktor fisiologis dari tanaman itu sendiri. Setiap tanaman masing-masing memiliki perbedaan tahap perkembangan dan fisiologis. Bibit merupakan bahan dasar awal terbentuknya potensi rendemen dan biomasa tanaman. Masing-masing bibit memiliki potensi genetik yang berasal dari klon dan varietasnya sehingga memiliki faktor fisiologis yang juga berbeda-beda pada setiap pertumbuhannya (Soemarno, 2010).

4.4.3 Jumlah Anakan Tanaman Tebu

Pengamatan terhadap jumlah anakan tebu dilakukan secara non-destruktif. Analisis perbedaan jumlah anakan tanaman tebu dengan pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N menggunnakan analisis ragam (Lampiran 3).



Gambar 11. Jumlah Anakan Tebu pada Perlakuan Dosis Pupuk N

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tebu varietas Bululawang hanya memberikan pengaruh nyata terhadap jumlah anakan tebu pada umur satu bulan. Hasil pengamatan jumlah anakan ini sama seperti dengan pengamatan terhadap jumlah daun tebu, yang

memberikan perbedaan nyata pada awal pertumbuhan tebu yaitu umur satu bulan saja. Hal ini menunjukkan bahwa inokulasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang diberikan pada awal tanam memberikan pengaruh nyata secara langsung terhadap pertumbuhan tebu. Faktor lain yang mempengaruhi jumlah anakan tebu yaitu dapat disebabkan karena perbedaan tahap perkembangan dan fisiologis bibit tebu sehingga terjadinya perbedaan dalam sistem metabolisme pertumbuhan tebu (Soemarno, 2010).

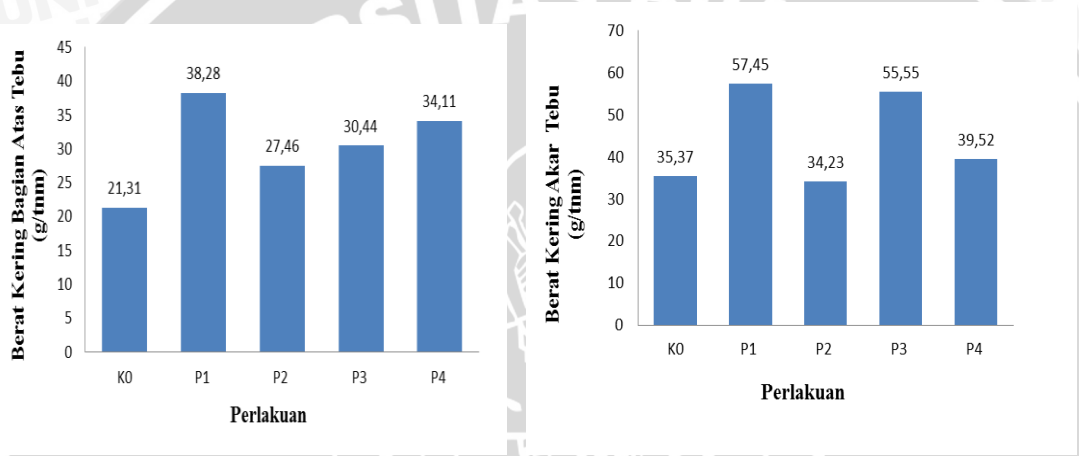
Berdasarkan hasil pengamatan untuk jumlah anakan tanaman tebu setelah umur tiga bulan diketahui bahwa perlakuan P4 memiliki jumlah anakan lebih banyak daripada perlakuan P1, P2, P3 dan juga kontrol (Gambar 11). Hasil tersebut bisa dikatakan bukan merupakan efek dari inokulasi bakteri endofit dan perlakuan dosis pupuk N pada tebu, tetapi mungkin bisa disebabkan dari sifat fisiologis bibit tebu yang digunakan. Setiap bibit tebu memiliki sifat fisiologisnya sendiri. Karakteristik fisiologis tanaman akan mempengaruhi sistem penyerapan unsur hara bagi tanaman. Masing-masing tanaman membutuhkan unsur hara dalam jumlah dan waktu yang berbeda-beda selama pertumbuhan dan perkembangannya. Tahap pertumbuhan dan perkembangan yang berbeda-beda tersebut berpengaruh terhadap sistem metabolisme tanaman. Soemarno (2010) mengatakan bahwa perbedaan fisiologis tanaman berpengaruh terhadap tahap metabolisme dan perkembangan tanaman sehingga dapat menyebabkan perbedaan pertumbuhan pada tahap selanjutnya

4.5. Berat Kering Tanaman Tebu *(Saccharum officinarum* L.*)*

Berat kering tanaman tebu terdiri dari berat kering bagian atas tanaman tebu dan berat kering akar tanaman tebu. Analisis perbedaan berat kering tanaman tebu pada masing-masing perlakuan dosis pupuk N dan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* menggunakan analisis ragam (Lampiran 3).

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada perlakuan dosis pupuk N yang diaplikasikan pada tebu varietas Bululawang tidak berpengaruh nyata terhadap berat kering bagian atas tanaman tebu dan berat kering akar tanaman tebu. Berat kering tanaman merupakan salah satu parameter yang sering digunakan

sebagai indikator dalam menilai pertumbuhan tanaman. Biomassa yang dihasilkan tanaman dapat dipengaruhi oleh faktor genetik varietas tebu. Perkembangan fisiologis genetik tanaman dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara. Kekurangan hara dapat berdampak pada terganggunya proses penyerapan hara dan air oleh akar tanaman dan pada akhirnya akan berpengaruh terhadap kemampuan tanaman untuk sintesis biomasa. Sutedjo (2008) mengatakan bahwa, kebutuhan tanaman akan berbagai macam unsur hara selama pertumbuhan dan perkembangan tidaklah sama dalam setiap periode waktu dan kebutuhannya.



Gambar 12. Berat Kering Tebu Bagian Atas (a) dan Berat Kering Akar Tebu (b)

Keterangan : K0 (Kontrol), P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*) , P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P3 (400 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*), P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacer diazotrophicus*).

Berdasarkan hasil pengamatan terhadap berat kering tanaman tebu diketahui bahwa bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* berkontribusi terhadap peningkatan berat kering tanaman tebu bagian atas dan berat kering akar tanaman tebu. Dari grafik menunjukkan bahwa berat kering tebu bagian atas dan akar pada perlakuan yang diberi bakteri endofit lebih tinggi daripada kontrol, terutama pada perlakuan P1 (800 kg N/ha + *Gluconaceobacter diazotrophicus* 5 mL) memiliki nilai berat kering yang lebih tinggi daripada P2, P3, P4 dan kontrol (Gambar 12). Perbedaan dosis pupuk N memiliki kontribusi pada peningkatan berat kering tanaman.

Berat kering tanaman sering disebut juga dengan biomassa tanaman. Biomassa tanaman sangat bergantung pada ketersediaan unsur hara bagi tanaman. Berat kering total hasil panen merupakan penimbunana bersih asimilasi CO_2. Akumulasi karbon adalah bukti kenaikan berat kering dan dapat diukur dengan penimbangan berat kering tanaman secara langsung. Optimalisasi rendemen (biomasa) tebu sesuai dengan potensi genetik yang dibawa suatu klon atau suatu varietas tebu. Setiap faktor mempunyai peranan terhadap terbentuknya rendemen dan akan saling berpengaruh seperti dari fisiologis, lingkungan dan bahan yang digunakan (Soemarno, 2010).

4.6. Hubungan Populasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan Kadar N-total Tanah dan Serapan N Tanaman Tebu

Tabel 6. Analisis Korelasi Antar Parameter

	Tinggi Tanaman	Jumlah Daun	Jumlah Anakan	Populasi Bakteri	BK Atas Tanaman	BK Akar Tanaman	Serapan N Tanaman	N-total Tanah
Tinggi Tanaman	1							
Jumlah Daun	0,72432	1						
Jumlah Anakan	0,27211	0,42991	1					
Populasi Bakteri	**0,18858**	**0,03323**	**0,21347**	1				
BK Atas Tanaman	0,82202	0,74963	0,55750	**0,33900**	1			
BK Akar Tanaman	0,34997	0,46926	0,20444	**0,00985**	0,39226	1		
Serapan N Tanaman	0,55700	0,37029	0,46569	**0,33112**	0,47972	0,33290	1	
N-total Tanah	**0,39827**	**0,20589**	**0,17828**	**0,41237**	**0,16162**	**0,03708**	**0,71814**	1

Menurut Sugiyono (2007) pedoman untuk memberikan interpretasi koefisien korelasi dan regresi sebagai berikut :

Interval Koefisien	Tingkat Hubungan
0,00 - 0,199	Sangat rendah
0,20 - 0,399	Rendah
0,40 - 0,599	Sedang
0,60 - 0,799	Kuat
0,80 - 1,000	Sangat kuat

Pemberian bakteri endofit pada perlakuan dosis pupuk N secara statistik berpengaruh nyata terhadap kadar N-total tanah dan serapan nitrogen tanaman. Hubungan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan kadar N-total tanah dan serapan nitrogen tanaman dianalisis dengan korelasi dan regresi. Populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang sedang terhadap kadar N-total tanah dengan koefisien korelasi 0,41 Sedangkan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang rendah terhadap serapan N tanaman dengan koefisien korelasi 0,33.

Pemberian bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* belum mampu dalam meningkatkan kadar N-total tanah dan serapan N tanaman tebu. Peningkatan kadar N-total tanah dan serapan N tanaman tebu yang diperoleh dari hasil penelitian ini sebagian besar masih dipengaruhi oleh faktor dosis pemupukan N yang diberikan. Nitrogen merupakan salah satu unsur hara makro primer yang sangat diperlukan oleh tanaman tebu, sehingga diperlukan pemupukan N untuk mengoptimalkan pertumbuhan tebu (Soemarno, 2011).

Tanaman menyerap nitrogen dalam bentuk nitrat (NO_3^-) dan ammonium (NH_4^+). Efisiensi penyerapan ammonium dan nitrat dipengaruhi oleh kadar N-tanah. Kandungan N-tanah akan mengalami serangkaian proses mineralisasi dan dekomposisi. Salah satu faktor yang mempengaruhi proses mineralisasi tersebut yaitu C-organik tanah. Proses dekomposisi tanah dengan C-organik organik yang tinggi akan terus berlanjut sehingga kebutuhan nitrogen mudah terpenuhi. Sedangkan kandungan C-organik pada media tanam yang digunakan sangat rendah yaitu hanya 0,74 % (Lampiran 5).

Kadar N-total berhubungan dengan serapan N tanaman yang akhirnya akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman. Kadar N-total tanah memiliki korelasi positif yang rendah terhadap tinggi dan jumlah daun tanaman tebu dengan interval koefisien korelasi 0,20-0,39. Sedangkan kadar N-total tanah memiliki korelasi positif sangat rendah terhadap jumlah anakan dan berat kering tanaman tebu dengan interval koefisien korelasi 0,00-0,19. Untuk serapan nitrogen tanaman, kadar N-total tanah memiliki korelasi positif kuat terhadap serapan nitrogen dengan nilai koefisien

korelasi 0,71. Dari analisis korelasi diketahui bahwa antara kadar N-total tanah dengan serapan nitrogen tanaman tebu memiliki tingkat hubungan yang kuat. Hal tersebut menunjukkan bahwa N-total tanah memberikan kontribusi dalam penyediaan nitrogen bagi tanaman. Penyedian nitrogen bagi tanaman tebu selain dipengaruhi oleh faktor pemupukan N, juga dipengaruhi oleh aktivitas mikroba tanah. Dengan bantuan mikroba tanah, nitrogen yang ada dalam pupuk dapat dikonversi menjadi bentuk tersedia bagi tanaman. Namun tingginya kehilangan hara nitrogen menyebabkan pergerakan nitrogen dalam tanah begitu cepat baik karena pencucian dan penguapan (Soemarno, 2011).

4.7. Hubungan Populasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dengan Pertumbuhan Tanaman Tebu

Populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang sangat rendah terhadap tinggi tanaman, jumlah daun dan berat kering akar tanaman tebu dengan interval koefisien korelasi 0,00-0,19. Sedangkan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang rendah terhadap jumlah anakan dan berat kering bagian atas tanaman tebu dengan interval koefisien korelasi 0,20-0,39. Setiap tanaman memiliki bakteri endofit, namun tidak semua bakteri endofit sesuai dan dapat tumbuh dengan baik pada setiap tanaman. Hal ini menunjukkan bahwa adanya interaksi yang kompleks antara bakteri dengan tanaman. Beberapa penelitian tentang bakteri endofit yang dilakukan di Brazil maupun India menunjukkan bahwa inokulasi bakteri endofit memberikan hasil yang bervariasi dan tidak konsisten pada beberapa varietas tebu yang berbeda. Hal ini tergantung pada kapasitas dan kesesuaian bakteri endofit dengan variatas yang di uji (Suman *et al.*, 2008). Demikian juga pada penelitian Wardani (2007) tentang aplikasi bakteri endofit pada beberapa varietas tebu, menyimpulkan bahwa bakteri endofit memiliki aktivitas dan penambatan nitrogen yang menguntungkan bagi tebu, namun tidak semua bakteri endofit memberikan hasil yang baik. Hal ini dipengaruhi oleh faktor kesesuaian antara bakteri endofit dengan varietas tebu.

V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

1. Perlakuan dosis pupuk N tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*. Tetapi pada perlakuan P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacter diazotrophicus*) memiliki populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya, yaitu 53,0 x 10^2 cfu/mL.
2. Perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* berpengaruh nyata terhadap kadar hara nitrogen tanah. Perlakuan P2 (600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacter diazotrophicus*) memiliki kadar N-total tanah yang lebih tinggi daripada perlakuan lainnya, yaitu 0,16 %
3. Perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* tidak berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan vegetatif tebu tetapi memberikan pengaruh nyata terhadap serapan N tanaman tebu. P1 (800 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacter diazotrophicus*) memiliki pengaruh yang baik untuk tinggi, jumlah daun, berat kering dan juga serapan N tanaman tebu, sedangkan untuk jumlah anakan perlakuan P4 (200 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacter diazotrophicus*) memiliki pertumbuhan jumlah anakan yang lebih banyak daripada perlakuan lainnya.
4. Populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* memiliki korelasi positif yang sedang terhadap N-total tanah dengan koefisien korelasi 41% dan memiliki korelasi positif yang rendah terhadap serapan nitrogen serta pertumbuhan tanaman tebu dengan interval nilai korelasi 10-30 %.

5.2. Saran

1. Dari berbagai perlakuan dosis pupuk N dengan pemanfaatan bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* yang diaplikasikan pada tanaman tebu, diketahui bahwa perlakuan P2 **(**600 kg N/ha + 5 mL *Gluconacetobacter diazotrophicus*) memiliki pengaruh yang baik dalam memenuhi kebutuhan hara nitrogen tanah dan tanaman tebu.
2. Perlu untuk diperhatikan dan dikaji kembali aplikasi beberapa isolat bakteri endofit dengan tanaman tebu sehingga dapat memberikan informasi yang lebih banyak lagi mengenai hubungan dan interaksi antara isolat-isolat bakteri endofit dengan tanaman tebu.

DAFTAR PUSTAKA

Aly., Debbab., dan Proksch. 2011. Endophytes Unique Plant in habitants with Great Promises. Appl Microbiol Biotechnol. 90 (2) : 1829–1845.

Arifin, B. 2008. Ekonomi Swasembada Gula Indonesia. Economic Review.

Baldani., Caruso., dan Dobereiner. 1997. Recent Advances in Biological Nitrogen Fixation Association with Non-Legume. Plant and Soil Biology Biochemistry. 29 (5) : 911-922.

Boddey., Urquiaga., Alves., dan Reis. 2003. Endophytic Nitrogen Fixation in Sugarcane. Present Knowledge and Future Application. Plant and Soil. 257 (3) : 169-147.

Danapriatna, Nana. 2010. Biokimia Penambatan Nitrogen oleh Bakteri Non Simbiotik. CEFARS. Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah. 1 (2) : 1-10

Dong, Z. 1994. Nitrogen Fixing Endophyte of Sugarcane Stems. New Role for the Apoplast. Plant Physiol. 105 (4) : 1139-1147.

Engelstad, O. P. 1997. Teknologi dan Penggunaan Pupuk. Edisi Ke-3. UGM Press. Yogyakarta.

Eskin, N., Vessey, K., dan Tian, L. 2005. Research Progress and Perspective of Nitrogen Fixing Bacterium, *Gluconacetobacter diazotrophicus* in Monocot Plants. Report Information from Proquest. International Journal of Agronomy. 271 (2) : 1-13

Hardjowigeno, S. 1995. Ilmu Tanah. Akademika Pressindo. Jakarta.

Hasanudin, B., Gonggo M., dan Y. Indriyani. 2006. Peran Pupuk N dan P terhadap Serapan N, Efisiensi N dan Hasil Tanaman Jahe dibawah Tegakan Tanaman Karet. Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia. 8 (1) : 15-35

Hunsigi, G. 1993. Production of Sugarcane. Springer Berlin Heidelberg. New York.

Indrawanto., Purwono., Siswanto., Syakir., dan Rumini. 2010. Budidaya dan Pasca Panen Tebu. Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. ESKA Media. Jakarta.

Kennedy, I.V., Choudhury., Mihaly., dan Kecskes. 2004. Non Symbiotic Bacterial *Diazotrophs* in Crop Farming System, can Their Potential for Plant Growth Promotion be Better Explointed. Soil Biology and Biochemistry 36 (4) : 1229-1244.

Leiwakabessy, F. M. dan A. Sutandi. 2004. Pupuk dan pemupukan. Departemen Ilmu Tanah Fakultas Pertanian. Bogor.

Bockman, O. C., Kaarstad, O., dan Laegreid, M. 1999. Fertilizers and Environmental Aspects. CABI Publishing. OSLO. Norway.

Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan. 2010. Budidaya Tebu. IPB Press. Bogor.

Pusat Penelitian Perkebunan Gula Indonesia (P3GI). 2013. Buku Saku Mengenal Varietas Tebu. Pasuruan.

Reis, V. M., F. Olivares., dan J. Dobereiner. 1994. Improve Methodology for Isolation of *Gluconacetobacter diazotrophicus* and Confirmation of its Endophytic Habitat. World Journal of Applied Microbiology. 40 (4) : 401-405.

Roesmarkam, A., dan Yuwono. 2002. Ilmu Kesuburan Tanah. Kanisius. Yogyakarta.

Saraswati, R., dan Sumarno. 2008. Pemanfaatan Mikroba Penyubur Tanah Sebagai Komponen Teknologi Pertanian. IPTEK Tanaman Pangan. 3 (1) : 41-58

Saraswati, R., Prihatini, T., dan Ratih, D. H. 2014. Tanah Sawah dan Teknologi Pengelolaanya. Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanah dan Agroklimat. Balai Penelitian Tanah. Bogor.

Simanungkalit. 2006. Aplikasi Pupuk Hayati dan Pupuk Kimia Suatu Pendekatan Terpadu. Agro Bio. 4 (2) : 25-50.

Soemarno. 2010. Bagaimana Meningkatkan Rendemen Tebu. FPUB. Malang.

_____. 2011. Pentingnya Nitrogen bagi Tebu. Bahan Kajian Pupuk dan Pemupukan. Jurusan Tanah. FPUB. Malang.

Suman A., A. K. Shrivasta., A. Gaur., P. Singh., J. Singh., dan R. L. Yadav. 2008. Nitrogen use Efficiency of Sugarcane Relation to its BNF Potential and Population of Endophytic *Diazotrophs* at Different N Levels. Plant Growth Regul. 54 (5) : 1-11.

Sutardjo, E. 1999. Budidaya Tanaman Tebu. Bumi Aksara, Jakarta.

Sutedjo, M. 2008. Pupuk dan Cara Pemupukan. Rineka Cipta. Jakarta.

Wardani, Kustia., Wiwik E. W., dan Langkah Sembiring. 2009. Kajian Aplikasi Bakteri Endofit Diazotrof pada Tebu *(Saccharum officinarum* L.) Varietas PS 851 dan PS 864. Prosiding Seminar Nasional Penelitian Pendidikan dan Penerapan MIPA. Fakultas MIPA. Universitas Negeri Yogyakarta.

Wiwik, 2012. Bakteri Endofit Khusus Tebu dapat Meningkatkan Kadar dan Bobot Gula. http://agrina-online.com/show_article.php_rid=10&aid=3638. Diakses tanggal 25 Januari 2015.

Yulianti. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. Indonesia Research Institute for Sweetener and Fiber Crops. Jurnal Perspektif. 11 (2) : 111-122.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan Kebutuhan Pupuk NPK pada Penelitian

Tanaman tebu ditanam pada polibag dengan menggunakan 5 kg tanah. Dosis anjuran pemupukan untuk tanaman tebu adalah 800 kg ZA/ha, 200 kg SP36/ha dan 200 kg KCL/ha. Penelitian ini menggunakan perlakuan dosis pupuk N (ZA) mulai dari dosis 200 kg ZA/ha, 400 kg ZA/ha, 600 kg ZA/ha sampai 800 kg ZA/ha. Sedangkan untuk dosis pupuk P (SP36) dan K (KCL) menggunakan dosis 200 kg SP36/ha dan 200 kg KCL/ha pada masing-masing perlakuan. Kebutuhan pupuk tersebut dikonversikan kedalam satuan g/polibag melalui perhitungan pupuk sebagai berikut :

Berat Tanah perhektar = 1 Ha x Kedalaman Perakaran Tebu x BI

$= 10.000\ m^2 \times 60\ cm \times 1{,}3\ g/cm^3$

$= 10^8\ cm^2 \times 60\ cm \times 1{,}3\ g/cm^3$

$= 6 \times 10^9\ cm^3 \times 1{,}3\ g/cm^3$

$= 7{,}8 \times 10^9\ g$

1. Kebutuhan Dosis Pupuk N (ZA)

- Konversi dosis pupuk N 800 kg/ha ke dalam g/polibag

$$\text{Dosis pupuk dipolibag} = \frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha)} \times \text{Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$$

$$= \frac{800\ kg/ha \times 5\ kg}{7{,}8 \times 10^9\ g}$$

$$= \frac{8 \times 10^5\ g//ha \times 5 \times 10^3\ g}{7{,}8 \times 10^9\ g} = 0{,}51\ g/polibag$$

- Konversi dosis pupuk N 600 kg/ha ke dalam g/polibag

$$\text{Dosis pupuk dipolibag} = \frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha)} \times \text{Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$$

$$= \frac{600\ kg/ha \times 5\ kg}{7{,}8 \times 10^9\ g}$$

$$= \frac{6 \times 10^5\ g//ha \times 5 \times 10^3\ g}{7{,}8 \times 10^9\ g} = 0{,}38\ g/polibag$$

- Konversi dosis pupuk N 400 kg/ha ke dalam g/polibag

Dosis pupuk dipolibag = $\frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha) x Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$

$= \frac{400 \text{ kg/ha x } 5 \text{ kg}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}}$

$= \frac{4 \times 10^5 \text{ g//ha x } 5 \times 10^3 \text{ g}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}} = 0{,}25$ g/polibag

- Konversi dosis pupuk N 200 kg/ha ke dalam g/polibag

Dosis pupuk dipolibag = $\frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha) x Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$

$= \frac{200 \text{ kg/ha x } 5 \text{ kg}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}}$

$= \frac{2 \times 10^5 \text{ g//ha x } 5 \times 10^3 \text{ g}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}} = 0{,}12$ g/polibag

2. Kebutuhan Pupuk P (SP36)

- Konversi dosis pupuk P 200 kg/ha ke dalam g/polibag

Dosis pupuk dipolibag = $\frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha) x Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$

$= \frac{200 \text{ kg/ha x } 5 \text{ kg}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}}$

$= \frac{2 \times 10^5 \text{ g//ha x } 5 \times 10^3 \text{ g}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}} = 0{,}12$ g/polibag

3. Kebutuhan Pupuk K (KCL)

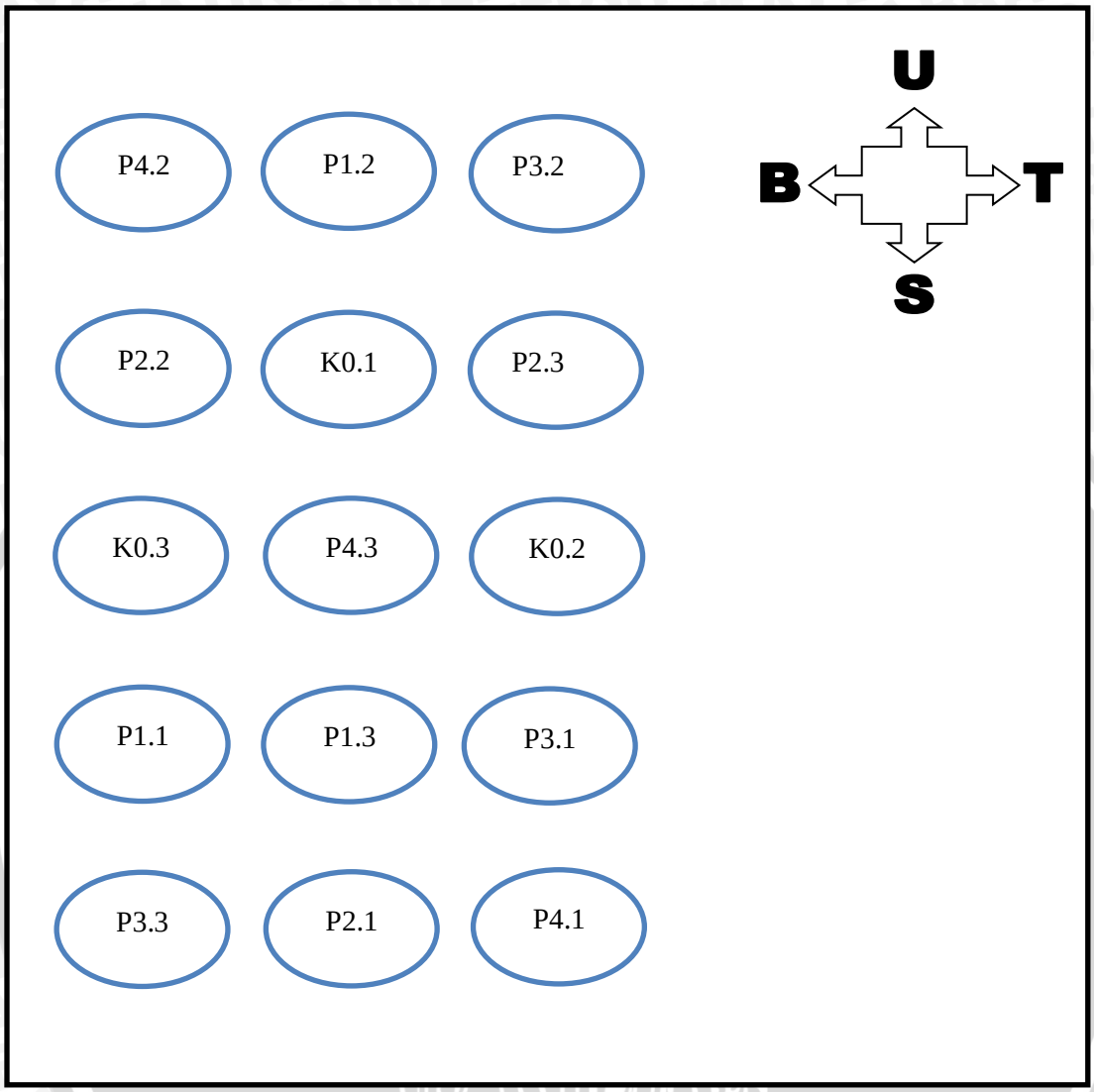
- Konversi dosis pupuk K 200 kg/ha ke dalam g/polibag

Dosis pupuk dipolibag = $\frac{\text{Dosis pupuk (kg/ha) x Berat polibag(kg)}}{\text{Berat Tanah perhektar (g)}}$

$= \frac{200 \text{ kg/ha x } 5 \text{ kg}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}}$

$= \frac{2 \times 10^5 \text{ g//ha x } 5 \times 10^3 \text{ g}}{7{,}8 \times 10^9 \text{ g}} = 0{,}12$ g/polibag

Lampiran 2. Denah Perlakuan Penelitian di Rumah Kaca



Keterangan

K0 = Kontrol

P1 = Dosis 800 kg N/ha + 5 mL bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P2 = Dosis 600 kg N/ha + 5 mL bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P3 = Dosis 400 kg N/ha + 5 mL bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P4 = Dosis 200 kg N/ha + 5 mL bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

K0.1 = Kontrol Ulangan 1

P1.1 = Perlakuan 1 Ulangan 1

Lampiran 3. Analisis Ragam pada Masing-masing Parameter Penelitian

Tabel 7. Analisis Ragam Populasi Bakteri *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	5191,60	1297,90	0,61 tn	3,47
Galat	10	20971,33	2097,13		
Total	14	26162,93	1868,78		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 8. Analisis Ragam Kandungan N-Total Tanah

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	0,03	0,0077	33,04 *	3,47
Galat	10	0,0023	0,0002		
Total	14	0,03	0,0023		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 9. Analisis Ragam Serapan N Tanaman Tebu

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	7,52	1,88	8067,47 *	3,47
Galat	10	0,0023	0,0002		
Total	14	7,53	0,53		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 10. Analisis Ragam Tinggi Tanaman Tebu

Pengamatan	Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
1 Bulan	Perlakuan	4	3335,60	833,90	3,18 tn	3,47
	Galat	10	2621,33	262,13		
	Total	14	5956,93	425,49		
2 Bulan	Perlakuan	4	6866,50	1716,62	2,77 tn	3,47
	Galat	10	6195,47	619,54		
	Total	14	13061,97	932,99		
3 Bulan	Perlakuan	4	10594,00	2648,49	2,42 tn	3,47
	Galat	10	10924,00	1092,36		
	Total	14	21518,00	1536,97		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 31. Analisis Ragam Jumlah Daun Tebu

Pengamatan	Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
1 Bulan	Perlakuan	4	6,40	1,60	4 *	3,47
	Galat	10	4,00	0,40		
	Total	14	10,40	0,74		
2 Bulan	Perlakuan	4	4,26	1,06	0,27 tn	3,47
	Galat	10	38,67	3,86		
	Total	14	42,93	3,06		
3 Bulan	Perlakuan	4	12,26	3,06	0,88 tn	3,47
	Galat	10	34,67	3,46		
	Total	14	46,93	3,35		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 12. Analisis Ragam Jumlah Anakan Tebu

Pengamatan	Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
1 Bulan	Perlakuan	4	5,73	1,43	3,58 *	3,47
	Galat	10	4,00	0,40		
	Total	14	9,73	0,69		
2 Bulan	Perlakuan	4	0,93	0,23	0,50 tn	3,47
	Galat	10	4,67	0,46		
	Total	14	5,60	0,40		
3 Bulan	Perlakuan	4	1,73	0,43	1,62 tn	3,47
	Galat	10	2,67	0,26		
	Total	14	4,40	0,31		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 13. Analisis Ragam Berat Kering Bagian Atas Tanaman Tebu

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	501,09	125,27	1,16 tn	3,47
Galat	10	1074,73	107,47		
Total	14	1575,83	112,55		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Tabel 14. Analisis Ragam Berat Kering Akar Tanaman Tebu

Sumber Keragaman	Derajat Bebas	Jumlah Kuadrat	Kuadrat Tengah	Nilai F Hitung	F Tabel 5%
Perlakuan	4	1509,73	377,43	1,14 tn	3,47
Galat	10	3303,49	330,34		
Total	14	4813,22	343,80		

Keterangan : (tn) tidak nyata, (*) nyata

Lampiran 4. Komposisi Media LB (*Luria Bertani*)

Pembuatan 1 liter media LB *(Luria Bertani)* terdiri dari komposisi bahan-bahan sebagai berikut :

- 10 g Trypton
- 5 g Yeast Extract
- 5 g NaCl
- Aquades Steril 1 Liter
- NaOH 25% sebanyak 5 tetes untuk pH Mencapai 7
- Agar Teknis 20 g

Lampiran 5. Analisis Awal Media Tanam

Analisis Tanah	Nilai	Kriteria
N-total (%)	0,06	Sangat Rendah
P Tersedia (ppm)	32,24	Sedang
K Tersedia (ppm)	295,2	Sangat Tinggi
pH H_2O	6,56	Sedang (Agak masam)
C-organik (%)	0,74	Sangat Rendah
Bahan Organik (%)	1,27	Rendah

Keterangan : Berdasarkan Analisis Laboratorium Kimia Tanah P3GI.
Kriteria Penilaian Sifat Kimia Tanah (LPT, 1983).

Lampiran 6. Persiapan Isolat Bakteri Endofit Penambat Nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* dan Aplikasi pada Tebu

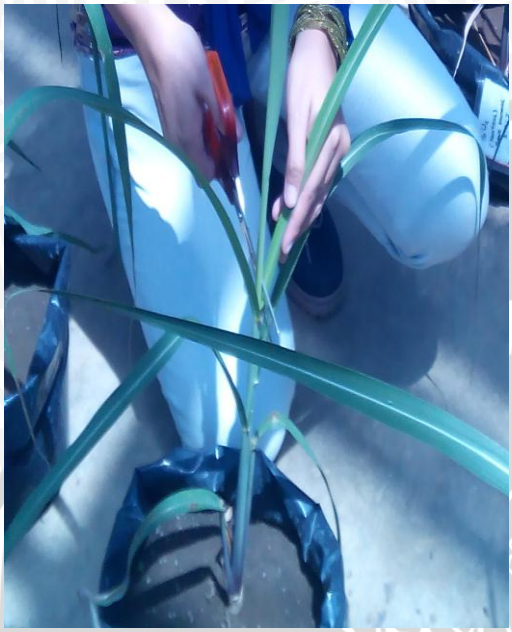
(a). Bakteri Endofit Penambat Nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* Dibawah Sinar UV

(b). Bakteri Endofit Penambat Nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* pada Media LB *(Luria Bertani)*

(c). Suspensi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

(d). Aplikasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Lampiran 7. Isolasi Bakteri Endofit Penambat Nitrogen *Gluconacetobacter diazotrophicus* **dari Jaringan Daun Tanaman Tebu**



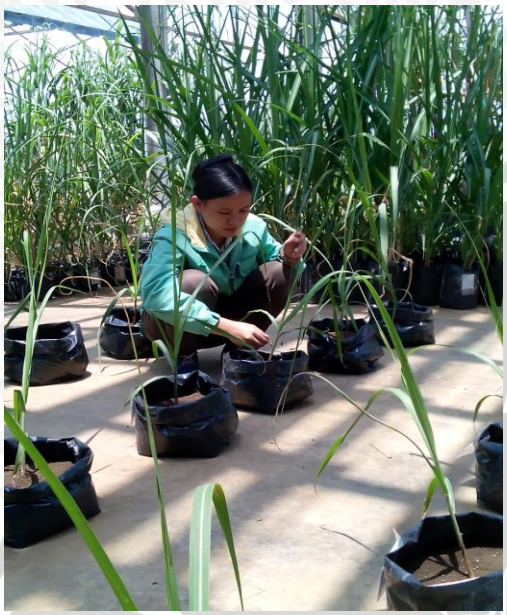
(e). Pengambilan Sampel Daun Tebu Untuk Isolasi

(f). Sterilisasi Sampel Daun Tebu

(g). Penggerusan Sampel Daun Tebu

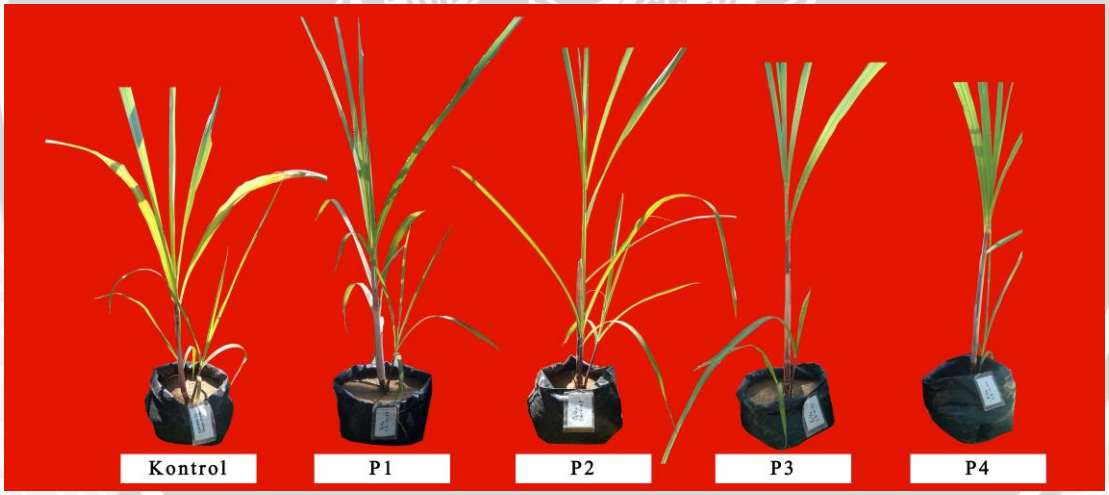
(h). Pengenceran dan Platting Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Lampiran 8. Pertumbuhan Tanaman Tebu



(i). Pengamatan Keragaan Tebu

(j). Pembongkaran Tebu dari Polibag



(k). Tanaman Tebu Umur 3 Bulan dalam Polibag

Kontrol = Tidak ada perlakuan pupuk dan bakteri

P1 = N 800 kg/ha + 5 ml *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P2 = N 600 kg/ha + 5 ml *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P3 = N 400 kg/ha + 5 ml *Gluconacetobacter diazotrophicus*

P4 = N 200 kg/ha + 5 ml *Gluconacetobacter diazotrophicus*

Lampiran 9. Sifat Morfologis Tebu Varietas Bululawang (P3GI, 2013)

1. Batang

- Bentuk batang : silindris dengan penampang bulat
- Warna batang : coklat kemerahan
- Lapisan lilin : sedang – kuat
- Retakan batang : tidak ada
- Cincin tumbuh : melingkar datar di atas pucuk mata
- Teras dan lubang : masif

2. Daun

- Warna daun : hijau kekuningan
- Ukuran daun : panjang melebar
- Lengkung daun : kurang dari ½ daun cenderung tegak
- Telinga daun : pertumbuhan lemah sampai sedang, kedudukan serong
- Bulu punggung : ada, lebat, condong membentuk jalur lebar

3. Mata Tunas

- Letak mata : pada bekas pangkal pelepah daun
- Bentuk mata : segitiga dengan bagian terlebar di bawah tengah mata
- Sayap mata : tepi sayap mata rata
- Rambut basal : ada
- Rambut jambul : ada

Lampiran 10. Cara Kerja Isolasi Bakteri Endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* **dari Jaringan Daun Tanaman Tebu**

Pengambilan 1 helai sampel daun tanaman tebu (daun ketiga)

↓

Cuci bersih dengan air mengalir

↓

Sterilisasi dengan larutan *sodium hypochloride* 20% selama 20 menit

↓

Bilas dengan aquades steril sebanyak 5 kali

↓

Sampel daun siap untuk digerus dengan menggunakan mortar dan pastel di LAFC

↓

Setiap sampel daun hasil penggerusan kemudian diambil sarinya untuk dibuat seri pengenceran 10^1-10^3 dalam aquades steril 9 mL.

↓

Sebanyak 1 mL suspensi bakteri dari pengenceran tersebut di inokulasi kedalam media LB *(Luria Bertani)*

↓

Inkubasi selama 2 hari

↓

Pengamatan populasi bakteri endofit *Gluconacetobacter diazotrophicus* dibawah illuminator UV