



**PENGARUH BAKTERI POTENSIAL YANG DIISOLASI DARI LAHAN  
KERING DI BALI SEBAGAI PENAMBAT N, PELARUT P DAN K PADA  
PERTUMBUHAN JAGUNG (*Zea mays* L.)**

Oleh  
**LAUDY ARRISA A. S.**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
MALANG  
2018**



**PENGARUH BAKTERI POTENSIAL YANG DIISOLASI DARI LAHAN  
KERING DI BALI SEBAGAI PENAMBAT N, PELARUT P DAN K PADA  
PERTUMBUHAN JAGUNG (*Zea mays* L.)**

Oleh  
**LAUDY ARRISA A. S.**

**145040200111124**

**PROGRAM STUDI AGROEKOTEKNOLOGI  
MINAT MANAJEMEN SUMBERDAYA LAHAN**

**SKRIPSI**

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

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN TANAH**

**MALANG**

**2018**



### 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 di perguruan tinggi manapun sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang dengan jelas ditunjukkan rujukannya dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, Juni 2018

Laudy Arrisa A.S  
145040200111124

**LEMBAR PERSETUJUAN**

Judul Penelitian : Pengaruh Bakteri Potensial yang Diisolasi dari Lahan Kering Di Bali sebagai Penambat N, Pelarut P dan K pada Pertumbuhan Jagung (*Zea Mays L.*)

Nama Mahasiswa : Laudy Arrisa Arumsari Sahana

NIM : 145040200111124

Jurusan : Tanah

Program Studi : Agroekoteknologi

Laboratorium : Biologi Tanah

Disetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Kedua,

**Prof. Ir. Eko Handayanto, M.Sc, Ph.D**

**Dr. Ir. R Cinta Badia Br Ginting, M.Si**

NIP : 19520305 197903 1 004

NIP : 19661020 199303 2 001

Diketahui,

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

Prof. Dr. Ir. Zaenal Kusuma, SU

Prof. Ir. Eko Handayanto, M.Sc, Ph.D

NIP. 19540501 198103 1 006

NIP. 19520305 197903 1 004

Penguji III

Penguji IV

Dr. Ir. R Cinta Badia Br Ginting, M.Si

Dr. Ir. Yulia Nuraini, MS

NIP. 19661020 199303 2 001

NIP. 19611109 198503 2 001

Tanggal Lulus:



## RINGKASAN

**LAUDY ARRISA A. S. 145040200111124. Pengaruh Bakteri Potensial yang Diisolasi dari Lahan Kering Di Bali Sebagai Penambat N, Pelarut P dan K pada Pertumbuhan Jagung (*Zea Mays L.*). Dibimbing Oleh Prof. Ir. Eko Handayanto, M.Sc, Ph.D, Sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Ir. R Cinta Badia Br Ginting, M.Si, Sebagai Pembimbing Kedua.**

Periode 2011 - 2015 rata-rata volume ekspor produksi tanaman jagung sebesar 70,48 ribu ton, sedangkan volume impor jauh lebih tinggi yaitu sebesar 2,97 juta ton (Nuryati *et al.*, 2016). Kondisi demikian mengindikasikan produksi jagung nasional masih belum cukup untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri. Kendala lahan kering yaitu rendahnya kesuburan tanah, kekeringan, dan erosi sehingga pertumbuhan tanaman jagung rendah. Tercatat Indonesia memiliki luasan total lahan kering sekitar 144 juta ha atau 78% dari luasan daratan Indonesia (Hidayat dan Mulyani, 2002). Pemanfaatan bakteri yang berada di sekitar atau berasosiasi dengan perakaran tanaman memiliki peranan yang sangat penting karena dapat menambat unsur hara juga menghasilkan hormon tumbuh, menekan penyakit tular tanah dan melarutkan unsur hara yang tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman. Keberadaan bakteri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai fasilitator peningkatan efektivitas dan efisiensi pupuk yang diberikan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui formulasi isolat bakteri potensial sebagai bakteri penambat nitrogen, pelarut fosfat dan kalium sebagai agen pupuk hayati serta pengaruh uji efektivitas isolat bakteri pada lahan kering terhadap pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays L.*)

Penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 - April 2018 di Laboratorium Biologi dan Rumah Kaca, Balai Penelitian Tanah, Jalan Tentara Pelajar No.12 Cimanggu, Bogor, Jawa Barat. Terdiri dari 10 perlakuan dan 4 kali ulangan. Perlakuan yang digunakan ialah formula negatif, formula positif, formula 1, formula 2, formula 3, formula 4, formula 5, formula 6, formula 7, dan formula 8. Rancangan penelitian yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Untuk parameter yang diamati ialah tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, berat basah tanaman dan akar serta berat kering tanaman dan akar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian bakteri dalam bentuk kombinasi atau konsorsium dari kelima jenis isolat bakteri ditambah dengan dosis 75% masing-masing pupuk urea, SP-36, dan KCl berpengaruh nyata serta memiliki hasil lebih tinggi dibandingkan perlakuan lain, terhadap parameter vegetatif seperti tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, dan berat basah tanaman dan akar. Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa pemberian bakteri dalam bentuk konsorsium dari kelima jenis isolat bakteri tidak berpengaruh nyata terhadap parameter berat kering tanaman dan akar. Namun, dari semua perlakuan, perlakuan F7 (konsorsium + 75% NPK rekomendasi) mendominasi hasil tertinggi pada setiap parameter pengamatan. Salah satunya parameter panjang akar yang memiliki kenaikan sebesar 1,64% dibandingkan perlakuan formula negatif dan 1,56% dibandingkan perlakuan formula positif. Hal ini dikarenakan peningkatan dan penambahan panjang akar pada tanaman yang diberikan konsorsium bakteri disebabkan oleh penyerapan unsur nitrogen yang baik oleh akar tanaman jagung. Menurut Agustina (2004), mengatakan bahwa peningkatan pertumbuhan tanaman diakibatkan oleh penyerapan unsur nitrogen yang lebih tinggi.



## SUMMARY

**LAUDY ARRISA A. S. 145040200111124. The Effect of Potential Bacteria that were Isolated from Dry Land in Bali as Fastening N, Solvent P and K on Growth of Corn (*Zea Mays L.*). Supervised by Prof. Ir. Eko Handayanto, M.Sc, Ph.D, as main supervisor and Dr. Ir. R Cinta Badia Br Ginting, M.Si, as second supervisor.**

---

In the period of 2011 - 2015, the average export volume of maize production was 70,48 thousand tons, while import volume was much higher at 2,97 million tons (Nuryati *et al.*, 2016). This condition indicates that national corn production is not enough to meet domestic demand. Constraints of dry land are low soil fertility, drought, and erosion so that the growth of corn crop is low. Recorded Indonesia has a total dry land area of about 144 million ha or 78% of the land area of Indonesia (Hidayat and Mulyani, 2002). The using of bacteria that are around or associated with rooting plants have a very important role because it can inhibit nutrients also produce growth hormone. Also, it is pressing soil infectious diseases and dissolving nutrients that are not available become available for plants. The existence of these bacteria can be used as the facilitator to increase effectiveness and efficiency of fertilizer given. The aim of this research is to know the formulation of potential bacterial isolates as nitrogen-fixing bacteria, phosphate solvent and potassium as bio-fertilizer agent and the effect of bacterial isolate test on dry land to corn plant growth (*Zea mays L.*)

The research was conducted in November 2017 - April 2018 in Biological Laboratory and Greenhouse, Balai Penelitian Tanah, Tentara Pelajar Road 12 Cimanggu, Bogor, West Java. Consists of ten treatments and four replications. The treatment used is the formula negative, formula positive, formula 1, formula 2, formula 3, formula 4, formula 5, formula 6, formula 7, and the formula 8. The research designs used by completely randomized design (CRD). For parameters that observed plant height, leaf number, root length, fresh weight and root crops as well as plants and root dry weight.

Results of the research showed that administration of the bacteria in the form of combined or consortium of five types of bacteria combined with a dose of 75% respective of urea, SP-36 and KCl real effect and has a higher yield than the other treatments, the parameters of vegetative plant height, leaf number, root length and fresh weight and root crops. The results also showed that administration of the bacteria in the form of a consortium of bacteria not significantly affect the five types of plant dry weight parameters and roots. But, of all treatments, treatments F7 (consortium + 75% NPK recommendation) dominate the top results in every parameter of observation. One of the root length parameter that has an increase of 1,64% compared to the negative control treatment and 1,56% compared to the positive control treatment. This is happening because an increase in the length and the roots of the plants are giving a consortium of bacteria in the caused by the absorption of nitrogen either by the roots of corn plants. According to Agustina (2004), said that the increase in plant growth in the caused by the absorption of nitrogen is higher.



## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadiran Allah SWT karena dengan rahmat dan hidayah-Nya telah menuntun dan mempermudah penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian dengan judul “Pengaruh Bakteri Potensial yang Diisolasi dari Lahan Kering Di Bali Sebagai Penambat N, Pelarut P dan K pada Pertumbuhan Jagung (*Zea Mays L.*)”. Penelitian ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memenuhi tugas akhir pada gelar sarjana strata-1 Jurusan Tanah, Fakultas Pertanian, Universitas Brawijaya, Malang.

Pada kesempatan ini, dengan segala kerendahan hati dan rasa hormat, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Zaenal Kusuma, SU selaku Ketua Jurusan Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya,
2. Prof. Ir. Eko Handayanto, M.Sc. Ph.D selaku Pembimbing Utama, atas bimbingan dan arahan yang diberikan selama pelaksanaan kegiatan penelitian dan penyusunan laporan akhir,
3. Dr. Ir. R Cinta Badia Br Ginting, M.Si selaku Pembimbing Kedua, atas ilmu dan motivasi selama melaksanakan kegiatan penelitian di Balai Penelitian Tanah, Bogor,
4. Papa, Mama, kakak, dan adik serta seluruh keluarga yang telah memberikan doa serta dorongan material, spiritual dan semangat selama kegiatan penelitian dan penyusunan laporan akhir,
5. Arin, Fadil, Sarah, Mirna, Salma, Intan, Vira, Cece, Sisca, Hisyam, Widura, Rizki, Dwibag, Luqman, Mas Deddy, Mas Taruna, dan Mbak Anka
6. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu dan memberi semangat dalam penyusunan tugas akhir penelitian.

Penulis berharap hasil penelitian ini dapat bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan seluruh pembaca pada umumnya. Penulis menyadari bahwa hasil penelitian ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dari berbagai pihak sangat penulis harapkan guna kesempurnaan tulisan ini.

Malang, Juni 2018

Laudy Arrisa A.S.





## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Lumajang pada tanggal 23 Mei 1995 sebagai putri kedua dari tiga bersaudara dari Bapak Edy Sahana dan Ibu Lilik Sudarwati.

Penulis menempuh pendidikan dasar di SDN Klakah 1 pada tahun 2002 sampai tahun 2008, kemudian penulis melanjutkan ke SMPN 1 Sukodono pada tahun 2008 dan selesai pada tahun 2011. Pada tahun 2011 sampai tahun 2014 penulis studi di SMAN 2 Lumajang. Pada tahun 2014 penulis terdaftar sebagai mahasiswi Strata-1 Program Studi Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang, Jawa Timur, melalui jalur SBMPTN.

Selama menjadi mahasiswi penulis pernah aktif dalam kepanitiaan Pasca Gatraksi pada tahun 2016 sebagai koordinator divisi acara, *Upgrading* HMIT pada tahun 2017 sebagai sekretaris pelaksana, Kaldera (Kegiatan Analisis Lahan dan Pengabdian Masyarakat) pada tahun 2017 sebagai anggota divisi humas (hubungan masyarakat), Pelatihan GIS dan Survei Tanah pada tahun 2017 sebagai *Steering Committee*, Olimpiade Ilmu Tanah pada tahun 2017 sebagai anggota divisi humas (hubungan masyarakat), Workshop Penulisan Proposal PKM pada tahun 2017 sebagai koordinator divisi humas (hubungan masyarakat), GATRAKSI (Galang Mitra dan Kenal Profesi) pada tahun 2017 sebagai anggota divisi acara, GALIFU (Geomorfologi Analisis Lahan dan Interpretasi Foto Udara) pada tahun 2017 sebagai anggota divisi acara, dan GATRAKSI pada tahun 2018 sebagai anggota divisi acara. Serta aktif dalam keorganisasian HMIT (Himpunan Mahasiswa Ilmu Tanah) yang menjabat sebagai anggota departemen PSDM (Pengembangan Sumberdaya Mahasiswa) pada periode 2017.

## DAFTAR ISI

|   |                                     |
|---|-------------------------------------|
| RINGKASAN                                 | i                                   |
| SUMMARY                                   | 4                                   |
| KATA PENGANTAR                            | 5                                   |
| RIWAYAT HIDUP                             | 6                                   |
| DAFTAR ISI                                | 7                                   |
| DAFTAR TABEL                              | 8                                   |
| DAFTAR GAMBAR                             | 9                                   |
| DAFTAR LAMPIRAN                           | 10                                  |
| I. PENDAHULUAN                            | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 1.1. Latar Belakang                       | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 1.2. Rumusan Masalah                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 1.3. Tujuan Penelitian                    | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 1.4. Hipotesis                            | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 1.5. Manfaat Penelitian                   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| II. TINJAUAN PUSTAKA                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.1. Lahan Kering                         | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.2. Isolasi Bakteri                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.3. Teknik Dilusi (Pengenceran)          | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.4. Pertumbuhan Bakteri pada Tanah       | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.5. Bakteri Penambat Nitrogen (N)        | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.6. Bakteri Pelarut Fosfat (P)           | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.7. Bakteri Pelarut Kalium (K)           | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.8. Tanaman Jagung ( <i>Zea mays</i> L.) | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.9. Biologi                              | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| III. METODE PENELITIAN                    | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian          | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.2. Alat dan Bahan Penelitian            | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.3. Rancangan Penelitian                 | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.4. Pelaksanaan Penelitian               | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.5. Parameter Pengamatan                 | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.6. Analisis Data                        | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| IV. HASIL DAN PEMBAHASAN                  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.1. Hasil                                | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.2. Pembahasan                           | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.3. Pembahasan Umum                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| V. KESIMPULAN DAN SARAN                   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 5.1. Kesimpulan                           | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 5.2. Saran                                | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| DAFTAR PUSTAKA                            | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| LAMPIRAN                                  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |



## DAFTAR TABEL

| Nomor | Teks   | Halaman                             |
|-------|--|-------------------------------------|
| 1.    | Rincian Perlakuan Percobaan .....                                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.    | Rincian Parameter Pengamatan .....                                     | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.    | Jadwal Penelitian .....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.    | Hasil Uji Isolat Bakteri dalam Menambat N, Melarutkan P dan K          | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 5.    | Hasil Pengujian pada Isolat Bakteri Terpilih .....                     | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 6.    | Hasil Uji Kompatibilitas .....   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 7.    | Hasil Identifikasi Isolat Bakteri secara Makroskopis ...               | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 8.    | Hasil Identifikasi Isolat Bakteri secara Makroskopis ...               | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 9.    | Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Tinggi Tanaman.                     | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 10.   | Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Jumlah Daun                         | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 11.   | Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Berat Basah Tanaman dan Akar .....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 12.   | Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Berat Kering Tanaman dan Akar ..... | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |





## DAFTAR GAMBAR

| Nomor | Teks   | Halaman                             |
|-------|--|-------------------------------------|
| 1.    | Cara Pengukuran Zona Bening: (a) bakteri yang memiliki bentuk lingkaran sempurna (b) bakteri yang berbentuk lingkaran tidak sempurna (c) bakteri yang tidak berbentuk..... | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.    | Kemampuan Isolat Bakteri Melarutkan Fosfat.....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.    | Indeks Pelarutan dan Nilai Absorbansi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat.....   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.    | Indeks Pelarutan dan Nilai Absorbansi Isolat Bakteri Pelarut Kalium.....   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 5.    | Pelikel pada Media JNFB Semi Solid.....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 6.    | Hasil Rerata Panjang Akar Tanaman Jagung.....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |

## DAFTAR LAMPIRAN

| Nomor | Teks  | Halaman                             |
|-------|---|-------------------------------------|
| 1.    | Komposisi Media .....   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 2.    | Perhitungan Pupuk .....   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 3.    | Tabel Profil dan Kedalaman Horizon Tanah .....                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 4.    | Grafik Standar Aktivitas Nitrogenase melalui Uji ARA .....          | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 5.    | Grafik Standar Absorbansi menggunakan Spektrofotometri Uv-vis ..... | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 6.    | Isolat Bakteri Potensial .....                                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 7.    | Uji Patogenitas (Blood Agar) pada Isolat Bakteri Terpilih .....     | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 8.    | Uji Hipersensitivitas pada Daun Tembakau .....                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 9.    | Identifikasi Isolat Bakteri Terpilih secara Makroskopis .....       | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 10.   | Identifikasi Isolat Bakteri Terpilih secara Mikroskopis .....       | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 11.   | Tanaman Jagung Umur 30 HST .....                                    | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 12.   | Panjang Akar Tanaman Jagung .....                                   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 13.   | Analisis Ragam Tinggi Tanaman .....                                 | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 14.   | Analisis Ragam Jumlah Daun .....                                    | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 15.   | Analisis Ragam Panjang Akar .....                                   | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 16.   | Analisis Ragam Berat Basah Tanaman dan Akar ..                      | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| 17.   | Analisis Ragam Berat Kering Tanaman dan Akar ..                     | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |



## I. PENDAHULUAN

### 1.1. Latar Belakang

Jagung merupakan salah satu tanaman pangan penting di Indonesia bahkan dunia. Jagung dimanfaatkan sebagai sumber karbohidrat yang penting, selain gandum dan padi. Di Indonesia sendiri, beberapa daerah seperti Madura dan Nusa Tenggara pernah mengkonsumsi jagung sebagai sumber pangan utama. Selain sebagai bahan makanan pokok, jagung juga digunakan sebagai bahan olahan minyak goreng, tepung maizena, etanol, asam organik, dan industri pakan ternak. Jagung juga dimanfaatkan sebagai bahan baku energi alternatif (Nuryati *et al.*, 2016). Kontribusi terbesar panen jagung nasional berasal dari Provinsi Jawa Timur yaitu sebesar 30,73%, kemudian oleh Jawa Tengah sebesar 13,97%, sedangkan Provinsi Jawa Barat menempati urutan ke-7 dan hanya menyumbang 3,85% dari luas panen nasional. Total kontribusi 3 (tiga) provinsi sentra di Jawa ini mencapai 48,54%, tujuh provinsi sentra lainnya merupakan provinsi di luar pulau jawa (Nuryati *et al.*, 2016).

Periode 2011 - 2015 rata-rata volume ekspor sebesar 70,48 ribu ton, sedangkan volume impor jauh lebih tinggi yaitu sebesar 2,97 juta ton (Nuryati *et al.*, 2016). Kondisi demikian mengindikasikan produksi jagung nasional masih belum cukup untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri. Faktor rendahnya produksi jagung nasional salah satunya yaitu kondisi lahan untuk budidaya jagung. Kendala lahan kering yaitu rendahnya kesuburan tanah, kekeringan, dan erosi sehingga pertumbuhan tanaman jagung rendah.

Pengoptimalan lahan kering di Indonesia mampu berkontribusi dalam meningkatkan pembangunan pertanian. Tercatat Indonesia memiliki luasan total lahan kering sekitar 144 juta ha atau 78% dari luasan daratan Indonesia (Hidayat dan Mulyani, 2002). Dari luasan tersebut yang sesuai untuk pertanian sekitar 64,5 juta ha, yang terbagi dalam lahan kering tanaman semusim sebesar 24,8 juta ha dan lahan kering tanaman tahunan sebesar 39,7 juta ha (BBSDL, 2008). Lahan kering di Indonesia didominasi oleh lahan kering bereaksi masam dan telah mengalami pelapukan lanjut seperti *ultisol*, *oxisol*, dan *inceptisol*. Tanah masam seperti *ultisol* memiliki ketersediaan unsur fosfor (P) sangat rendah karena difiksasi oleh Al dan Fe, serta diketahui kandungan nitrogen (N) serta bahan



organik juga rendah (Adrinal *et al.*, 2011). Rendahnya ketersediaan unsur hara dalam tanah dapat menyebabkan rendahnya tingkat kesuburan tanah, hal ini akan menjadi faktor pembatas dari hasil tanaman (Tania *et al.*, 2012). Unsur hara yang esensial untuk pertumbuhan tanaman diantaranya fosfor (P) dan nitrogen (N). Fosfor dan nitrogen secara bersamaan akan mempengaruhi pertumbuhan tanaman pada pembentukan sel-sel baru jaringan meristematis tanaman, sehingga dapat membantu proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman. Kandungan fosfat dalam bentuk organik pada tanah masam seperti *axisol* dan *ultisol* bervariasi dari 20-80% bahkan kurang dari 20% tergantung bahan induknya, sementara ketersediaannya di dalam tanah bagi tanaman hanya 0,01% dari total P.

Adanya unsur nitrogen dan fosfor juga mendukung proses fotosintesis sehingga fotosintat yang dihasilkan semakin banyak, kemudian fotosintat akan ditranslokasikan ke bagian vegetatif tanaman untuk digunakan membentuk batang dan daun sehingga dapat meningkatkan berat kering tanaman secara keseluruhan (Gusniwati *et al.*, 2008). Fosfat harus ada dalam bentuk senyawa anorganik sebelum dapat diserap oleh tanaman, dalam bentuk ion ortofosfat seperti  $H_2PO_4^-$ ,  $HPO_4^{2-}$ . Unsur hara fosfor (P) dan nitrogen (N) di tanah sangat penting ketersediaannya untuk pertumbuhan tanaman, maka mikroorganisme seperti bakteri dapat digunakan untuk meningkatkan unsur hara yang tersedia bagi tanaman. Bakteri pelarut fosfat (BPF) dan bakteri penambat nitrogen (BPN) dapat menyediakan P dan N agar dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Unsur fosfor (P) adalah unsur hara esensial kedua setelah N yang berperan penting dalam proses fotosintesis dan perkembangan akar tanaman.

Selain itu, kalium merupakan unsur hara esensial selain N dan P. Meskipun K di dalam tanah cukup besar, akan tetapi persentase yang tersedia bagi tanaman selama musim pertumbuhan tanaman rendah. Ketersediaan kalium dalam tanah dapat digolongkan menjadi K segera tersedia, K lambat tersedia, dan K relatif tidak tersedia. Bentuk K relatif tidak tersedia mencakup 90% sampai 98% dari K total pada tanah mineral. Senyawa yang mengandung bentuk K yang relatif tidak tersedia ini adalah *feldspar* dan mika yang relatif tahan terhadap hancuran iklim. Namun, dengan adanya pengaruh air yang mengandung karbonat dan adanya liat masam akan membantu proses penghancuran mineral primer dan



akibatnya akan dibebaskan unsur K dan basa lainnya. Bentuk K lambat tersedia meliputi 18 - 20% dari total K dalam tanah. Bentuk K tersebut difiksasi oleh mineral 2:1 seperti illit, khlorit, dan vermikulit. Kalium yang difiksasi mineral liat ini tidak dapat digantikan melalui sistem pertukaran hara sehingga menjadi lambat tersedia. Kalium segera tersedia apabila berada dalam bentuk K dapat ditukar dan K dalam larutan tanah yang meliputi 1 - 2% dari K total tanah.

Pemanfaatan bakteri yang berada di sekitar atau berasosiasi dengan perakaran tanaman memiliki peranan yang sangat penting karena dapat menambat unsur hara juga menghasilkan hormon tumbuh, menekan penyakit tular tanah dan melarutkan unsur hara yang tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman. Keberadaan bakteri tersebut dapat dimanfaatkan sebagai fasilitator peningkatan efektivitas dan efisiensi pupuk yang diberikan. Keuntungan lain dari penggunaan mikroorganisme untuk tanaman adalah lebih ramah terhadap lingkungan. Manfaat bakteri tanah dalam usaha pertanian belum disadari sepenuhnya, bahkan sering diposisikan sebagai komponen yang merugikan, karena pandangan masyarakat awam terhadap bakteri lebih terfokus terhadap bakteri patogen yang menimbulkan penyakit tanaman. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menemukan genus bakteri potensial yang mampu menyediakan unsur hara esensial khususnya N, P, dan K yang dapat memenuhi kebutuhan pertumbuhan tanaman jagung.

## 1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, perumusan masalah dalam proposal penelitian ini adalah:

1. Apa jenis bakteri penambat N, pelarut P dan K yang berpotensi digunakan sebagai agen pupuk hayati?
2. Bagaimana pengaruh bakteri potensial pada lahan kering terhadap pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.) dengan bentuk pengaplikasian sebagai agen pupuk hayati?



### 1.3. Tujuan Penelitian

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah yang ada maka tujuan penelitian ini yaitu:

1. Mengetahui isolasi dan identifikasi bakteri potensial penambat nitrogen, pelarut fosfat dan kalium
2. Mengetahui formulasi isolat bakteri potensial sebagai agen pupuk hayati
3. Mengetahui pengaruh uji efektivitas isolat bakteri potensial pada lahan kering terhadap pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.)

### 1.4. Hipotesis

Hipotesis penelitian ini ialah:

1. Isolat bakteri yang memiliki fungsional tinggi dapat digunakan sebagai agen pupuk hayati untuk membantu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.) pada lahan kering
2. Kemampuan formulasi dari konsorsium bakteri dapat menjadikan lahan kering menjadi potensial dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.) lebih tinggi dan optimal

### 1.5. Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai tambahan informasi upaya dalam menemukan genus hingga spesies bakteri yang dapat menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium pada lahan kering yang nantinya bakteri tersebut dapat meningkatkan ketersediaan unsur hara esensial N, P, dan K untuk pertumbuhan tanaman jagung (*Zea mays* L.).



## II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. Lahan Kering

Lahan kering merupakan salah satu agroekosistem yang mempunyai potensi besar untuk usaha pertanian, baik tanaman pangan, hortikultura (sayuran dan buah-buahan) maupun tanaman tahunan dan peternakan. Berdasarkan Atlas Arahan Tata Ruang Pertanian Indonesia skala 1:1.000.000 (Pusat Penelitian dan Pengembangan Tanah dan Agroklimat, 2001 dalam Dariah *et al.*, 2008), Indonesia memiliki daratan sekitar 188,20 juta ha, terdiri atas 148 juta ha lahan kering (78%) dan 40,20 juta ha lahan basah (22%). Dari total luas 148 juta ha, lahan kering yang sesuai untuk budidaya pertanian hanya sekitar 76,22 juta ha (52%), sebagian besar terdapat di dataran rendah (70,71 juta ha atau 93%) dan sisanya di dataran tinggi (Dariah *et al.*, 2008).

Lahan kering berpotensi besar dalam penyediaan pangan bagi masyarakat Indonesia. Lahan kering yang potensial dapat menghasilkan bahan pangan yang cukup dan bervariasi, tidak hanya padi gogo tetapi juga bahan pangan lainnya, bila dikelola dengan menggunakan teknologi yang efektif dan strategi pengembangan yang tepat (Dariah *et al.*, 2008). Bahan pangan bukan hanya beras, tetapi juga jagung, sorgum, kedelai, kacang hijau, ubi kayu, ubi jalar, dan sebagainya, yang kesemuanya dapat dibudidayakan di lahan kering (Dariah *et al.*, 2008).

Lahan kering rentan mengalami degradasi yang mengakibatkan kesuburannya menurun. Lahan kering memiliki tingkat kesuburan tanah yang rendah, terutama pada tanah-tanah yang tererosi, sehingga lapisan olah tanah menjadi tipis dan kadar bahan organik rendah. Kondisi ini makin diperburuk dengan terbatasnya penggunaan pupuk organik, terutama pada tanaman pangan semusim (Dariah *et al.*, 2008). Bahan organik di lahan kering cenderung rendah karena laju dekomposisi yang cepat dan hanyut terbawa erosi. Bahan organik menurun 30 - 60% dalam waktu 10 tahun di daerah tropis (Brown dan Lugo, 1990 dalam Suriadikarta *et al.*, 2002 dalam Dariah *et al.*, 2008). Di Indonesia sekarang ini masih banyak dijumpai lahan kering yang kurang subur atau dalam keadaan kritis, terutama di sekitar daerah aliran sungai (DAS) (Sudaryono, 2002). Akibat dari teknik budidaya yang tidak mengindahkan kaidah konservasi tanah dan air,



pada kemiringan yang curam dan curah hujan yang tinggi di wilayah usahatani lahan kering berbasis tembakau di Sub-DAS Progo Hulu telah menyebabkan terjadinya erosi yang parah dan degradasi lahan (Djajadi, 2000). Degradasi lahan pada sistem usaha tani lahan kering berbasis tembakau (UTLKBT) di Sub-DAS Progo Hulu telah menyebabkan penurunan kesuburan tanah, penurunan produktivitas lahan, serta kerusakan lahan (Suyana, 2014).

## 2.2. Isolasi Bakteri

Kegiatan mikrobiologi pembuatan isolat dilakukan dengan cara mengambil sampel mikrobiologi dari lingkungan yang ingin diteliti. Sampel tersebut kemudian dibiakkan dengan menggunakan media universal atau media selektif, tergantung tujuan yang ingin dicapai. Jika menggunakan media universal, biakan mikroba campuran. Proses identifikasi maupun isolasi jenis tertentu, dilakukan pembuatan isolat tunggal dari isolat campuran tersebut. Isolat tunggal atau biakan murni merupakan biakan yang asalnya dari pembelahan sel tunggal.

Ada beberapa cara yang digunakan untuk mengisolasi bakteri yang paling sering digunakan adalah teknik cawan tuang dan cawan gores. Kedua metode ini didasarkan pada prinsip yang sama yaitu mengencerkan organisme sedemikian rupa sehingga individu spesies dapat dipisahkan (Pelczar, 2006).

### 2.2.1 Metode Cawan Gores (*Streak Plate*)

Prinsip metode ini yaitu mendapatkan koloni yang benar-benar terpisah dari koloni yang lain, sehingga mempermudah proses isolasi. Cara ini dilakukan dengan membagi 3-4 cawan petri. Ose steril yang telah disiapkan diletakkan pada sumber isolat, kemudian ose tersebut digoreskan pada cawan petri berisi media steril. Goresan dapat dilakukan 3-4 kali membentuk garis horizontal di satu cawan. Ose disterilkan lagi dengan api bunsen. Setelah kering, ose tersebut digunakan untuk menggores goresan sebelumnya pada sisi cawan kedua. Langkah ini dilanjutkan hingga keempat sisi cawan tergores.



### 2.2.2 Metode Cawan Sebar (Spread Plate)

Teknik *spread plate/pour plate* (cawan sebar/tuang) adalah suatu teknik menumbuhkan mikroorganisme di dalam media padat dengan cara menuangkan stok kultur bakteri atau menghapuskannya di atas media agar yang telah memadat.

*Pour plate* kultur dicampurkan dengan media ketika media masih cair (belum memadat). Kelebihan teknik ini adalah mikroorganisme yang tumbuh dapat tersebar merata pada bagian permukaan agar.

Kelemahan metode ini adalah membutuhkan waktu dan bahan yang lama dan banyak, akan tetapi tidak memerlukan keterampilan tinggi. Biakan campuran diencerkan dengan menggunakan medium agar yang telah dicairkan dan didinginkan. Pengenceran dilakukan dalam beberapa tahap hingga diperoleh koloni tunggal. Pada umumnya isolasi bakteri dengan metode cawan gores dengan menggunakan media cair maupun padat.

### 2.3. Teknik Dilusi (Pengenceran)

Tujuan dari teknik ini adalah melarutkan atau melepaskan mikroba dari substratnya ke dalam air sehingga lebih mudah penanganannya. Sampel yang telah diambil kemudian disuspensikan dalam akuades steril. Teknik dilusi sangat penting dalam analisa mikrobiologi karena hampir semua metode penelitian dan perhitungan jumlah sel mikroba menggunakan teknik ini, seperti TPC (*Total Plate Counter*). Metode perhitungan angka lempeng total (*Total Plate Count*) merupakan salah satu cara untuk menghitung jumlah sel. Metode ini menggunakan anggapan bahwa setiap sel hidup akan berkembang menjadi satu koloni. Media yang digunakan yaitu media padat dengan hasil akhir berupa koloni yang dapat diamati secara visual berupa angka dalam koloni (cfu) per mL/g atau koloni/100mL. Hal yang penting dalam melakukan metode ini yaitu kemampuan melakukan pengenceran serta mencawakan hasil pengenceran. Cawan yang telah berisi hasil pengenceran kemudian diinkubasi dan dihitung jumlah koloni yang terbentuk. Jumlah koloni yang sesuai dengan kaidah statistik yaitu berjumlah 30-300 koloni pada cawan yang akan dihitung. Jumlah organisme kemudian dihitung dengan mengalikan jumlah koloni yang terbentuk dengan faktor pengenceran pada cawan yang bersangkutan (Soemarno, 2012).



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 tanah 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.

#### 2.4. Pertumbuhan Bakteri pada Tanah

Pertumbuhan merupakan proses bertambahnya ukuran atau substansi atau masa zat suatu organisme. Pada organisme bersel satu pertumbuhan lebih diartikan sebagai pertumbuhan koloni yaitu pertambahan jumlah koloni, ukuran koloni yang semakin besar atau substansi atau massa mikroba dalam koloni tersebut semakin banyak. Pertumbuhan pada mikroorganisme lebih ditunjukkan oleh adanya peningkatan jumlah mikroorganisme dan bukan peningkatan ukuran sel individu (Susilowati, 2001).

Pertumbuhan bakteri pada umumnya akan dipengaruhi oleh faktor-faktor tertentu. Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan bakteri atau kondisi untuk pertumbuhan optimum yaitu:

##### 1. Suhu

Berdasarkan kisaran suhu aktivitasnya, bakteri dibagi menjadi 3 golongan:

- Bakteri psikrofil, yaitu bakteri yang hidup pada daerah suhu antara  $0 - 30^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimum  $15^{\circ}\text{C}$ .
- Bakteri mesofil, yaitu bakteri yang hidup di daerah suhu antara  $15 - 55^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimum  $25 - 40^{\circ}\text{C}$ .
- Bakteri termofil, yaitu bakteri yang dapat hidup di daerah suhu tinggi antara  $40 - 75^{\circ}\text{C}$ , dengan suhu optimum  $50 - 65^{\circ}\text{C}$ .

##### 2. Kelembapan

Pada umumnya bakteri memerlukan kelembapan yang cukup tinggi, kira-kira 85%. Pengurangan kadar air dari protoplasma menyebabkan kegiatan metabolisme terhenti, misalnya pada proses pembekuan dan pengeringan.

##### 3. Cahaya



Cahaya sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan bakteri. Umumnya cahaya merusak sel mikroorganisme yang tidak berklorofil. Sinar ultraviolet dapat menyebabkan terjadinya ionisasi komponen sel yang berakibat menghambat pertumbuhan atau menyebabkan kematian.

Bakteri umumnya melakukan reproduksi atau berkembangbiak secara aseksual (vegetatif=tak kawin) dengan membelah diri. Pembelahan sel pada bakteri adalah pembelahan biner yaitu setiap sel membelah menjadi dua. Reproduksi bakteri secara seksual yaitu dengan pertukaran materi genetik dengan bakteri lainnya.

### 2.5. Bakteri Penambat Nitrogen (N)

Nitrogen merupakan salah satu unsur makro yang berperan penting sebagai penyusun utama asam amino yang digunakan untuk sintesis peptida dan protein serta berbagai komponen biologis, namun ketersediaan unsur nitrogen dalam tanah sering sangat terbatas. Sumber nitrogen (N) paling banyak terdapat di atmosfer, yaitu sekitar 78 - 80%. Bentuk  $N_2$ , nitrogen tidak dapat langsung dimanfaatkan oleh tanaman sehingga perlu diubah terlebih dahulu menjadi nitrat atau amonium agar dapat tersedia bagi tanaman. Pemupukan N diperlukan untuk menggantikan N yang terbawa pada saat tanaman dipanen maupun yang hilang tercuci. Salah satu pendekatan untuk meningkatkan efisiensi penggunaan N yang tersedia dalam tanah adalah penggunaan mikroorganisme penambatan N. Bakteri penambat N merupakan bakteri *micro-aerophylic* yang bersimbiotik di dalam sel korteks dan jaringan xilem akar tanaman. Bakteri ini mengubah gas  $N_2$  ke dalam bentuk amonium ( $NH_4^+$ ) serta dapat mensekresikan zat pemacu pertumbuhan seperti asam giberelat dan *Indole Acetic Acid* (IAA) yang dapat meningkatkan proliferasi akar dan pertumbuhan tanaman. Bakteri penambat N dikelompokkan menjadi dua yaitu kelompok bakteri penambat N yang bersimbiotik dan kelompok penambat nitrogen bebas non simbiotik. Penggunaan bakteri penambat N non simbiotik lebih luas dibandingkan dengan simbiotik. Genus bakteri penambat N non simbiotik aerob yang telah dikenal adalah *Azospirillum*, *Derxia*, *Mycobacterium*, *Beijerinckia*, *Azomonas*, dan *Azotobacter* (Widyastuti *et al.*, 2010). *Azotobacter* sp. merupakan bakteri non simbiotik yang mampu menambat N dari udara. Bakteri *Azotobacter* sp. banyak dijumpai di daerah rizosfer (dalam



tanah 20 – 8.000 sel/g) pada pH tanah antara 5,9 – 8,4 dan bersifat aerobik.

Bakteri *Azotobacter* sp. tidak dijumpai pada area dengan pH masam. Selain mampu menambat nitrogen, bakteri ini juga mengeluarkan hormon yang sama dengan hormon pertumbuhan tanaman, seperti giberelin, IAA, kinetin, dan vitamin B. Vitamin B ini berfungsi untuk aktivitas bakteri dalam peningkatan kemampuan memfiksasi N dari atmosfer. *Azotobacter* sp. dapat meningkatkan pertumbuhan melalui pasokan nitrogen, pasokan pengatur tumbuh, dan membuat kondisi tanah lebih menguntungkan untuk pertumbuhan tanaman.

Penelitian yang dilakukan oleh Joseph *et al.* (1997) menunjukkan bahwa 50% pupuk nitrogen dapat dikurangi penggunaannya melalui inokulasi *Azotobacter* sp. pada pembibitan. Bakteri non simbiotik lainnya yang dapat dimanfaatkan adalah *Azospirillum* sp. *Azospirillum* sp. menambat nitrogen pada kondisi mikroaerofil. Nitrogen yang ditambahkan diserap oleh tanaman dalam bentuk  $\text{NO}_3^-$  dan  $\text{NH}_4^+$ . *Azospirillum* sp. juga mampu menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti IAA, giberelin, auksin, dan senyawa yang menyerupai sitokinin.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa pemanfaatan *Azospirillum* sp. dapat meningkatkan efisiensi pemupukan pada beberapa tanaman.

## 2.6. Bakteri Pelarut Fosfat (P)

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan kelompok bakteri tanah yang memiliki kemampuan melarutkan P yang terfiksasi dalam tanah dan mengubahnya menjadi bentuk yang tersedia. Bakteri pelarut P ini dapat berupa bakteri *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Bacillus*, dan *Streptomyces*. Menurut Rodriguez dan Fraga (1999), dari beberapa kelompok bakteri, ternyata genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* mempunyai kemampuan yang tinggi dalam melarutkan fosfat. Keefektifan bakteri pelarut P yang hidup dalam permukaan akar seperti *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, dan *Pseudomonas striata* tidak hanya disebabkan oleh kemampuannya dalam meningkatkan ketersediaan unsur P, tetapi juga kemampuannya dalam menghasilkan zat pengatur tumbuh. Bakteri tersebut dapat menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti *Indole Acetic Acid* (IAA) dan asam giberelin (GA3), serta memiliki kemampuan sebagai agen biokontrol dan menurunkan endosulfan seperti pestisida organoklorin (Kukreja *et al.*, 2010).



Fosfor (P) merupakan unsur hara esensial makro seperti halnya karbon (C) dan nitrogen (N). Tanaman memperoleh unsur P seluruhnya berasal dari tanah atau dari pemupukan serta hasil dekomposisi dan mineralisasi bahan organik. Upaya dalam meningkatkan ketersediaan P bagi tanaman melalui pemupukan telah banyak dilakukan, namun yang terserap hanya 10 - 30% dari pupuk P yang diaplikasikan. Hal ini terjadi karena adanya fiksasi P yang tinggi oleh tanah terhadap pupuk yang diberikan sehingga menjadi tidak tersedia terutama pada tanah mineral bereaksi masam. Pada tanah yang bereaksi masam, fosfor terfiksasi menjadi Fe-P dan Al-P dan mengakibatkan bentuk ini menjadi sulit diserap tanaman. Salah satu alternatif untuk mengatasi rendahnya P-tersedia tanah adalah dengan memanfaatkan mikrobia tanah yang hidup bebas dan memiliki kemampuan untuk melarutkan P pupuk maupun P tanah, seperti bakteripelarat fosfat (BPF) (Hasanudin dan Gonggo, 2004). Kelompok BPF yang mempunyai kemampuan yang tinggi dalam melarutkan P yang terikat oleh unsur lain (Fe, Al, Ca, dan Mg) adalah *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., *Bacillus megaterium*, dan *Chromobacterium* sp. BPF berperan dalam transfer energi, penyusunan protein, koenzim, asam nukleat, vitamin dan fitohormon yang dapat memperbaiki pertumbuhan akar tanaman, serta meningkatkan serapan hara sehingga dapat meningkatkan efisiensi pemupukan (Glick, 1995).

### 2.7. Bakteri Pelarut Kalium (K)

Bakteri pelarut kalium (BPK) merupakan kelompok bakteri tanah yang memiliki kemampuan melarutkan mineral K seperti mika, illit, dan ortoklas. Bakteri pelarut K dapat melarutkan mineral K menjadi bentuk terlarut melalui produksi dan sekresi asam organik. Bakteri pelarut K dapat berupa *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Erwinia*, dan *Streptomyces*. Genus *Bacillus* mempunyai kemampuan yang lebih efisien dalam melarutkan mineral K atau silikat pada kondisi *in vitro*. Penggunaan bakteri pelarut K pada tanaman dilaporkan dapat memberikan efek yang menguntungkan pada pertumbuhan kapas dan lobak (Sheng, 2005), merica dan mentimun (Han *et al.*, 2006), tomat (Badr, 2006), gandum (Sheng dan He, 2006), dan rumput sudan (Basak dan Biswas, 2008). Menurut Singh *et al.* (2010), inokulasi tanaman jagung dan gandum dengan *Bacillus maciluginosus*, *Azotobacter chroococcum*, dan *Rhizobium* dapat mengakibatkan mobilisasi K

yang lebih tinggi dari limbah mika, sehingga dapat dimanfaatkan untuk pertumbuhan tanaman. Dengan demikian, penerapan bakteri pelarut K sebagai pupuk hayati untuk perbaikan pertanian dapat mengurangi penggunaan pupuk kimia dan mendukung produksi tanaman yang ramah lingkungan.

### 2.8. Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)

Jagung menjadi salah satu tanaman pangan strategis di Indonesia dan dunia. Selain merupakan bahan pangan pengganti beras yang dikonsumsi secara langsung oleh masyarakat, jagung juga merupakan bahan baku pakan ternak yang memiliki komposisi yang cukup dominan. Tanaman jagung digunakan sebagai hijauan pakan ternak, baik diambil minyaknya dari bulir, dibuat tepung yang dikenal dengan tepung jagung atau maizena dan bahan baku industri dari tepung bulir maupun tepung tongkolnya.

Tanaman jagung menghendaki tempat terbuka dan menyukai cahaya. Ketinggian tempat yang cocok untuk tanaman jagung dari 0 -1300 mdpl. Temperatur udara yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman jagung adalah 23 - 27°C. Curah hujan yang ideal untuk tanaman jagung pada umumnya antara 200 - 300 mm per bulan atau yang memiliki curah hujan tahunan antara 800 - 1200 mm. Tingkat keasaman tanah (pH) tanah yang optimal untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman jagung berkisar antara 5,6 - 6,2. Saat tanam jagung tidak tergantung pada musim, namun tergantung pada ketersediaan air yang cukup. Apabila pengairan dilakukan cukup, penanaman jagung pada musim kemarau akan memberikan pertumbuhan jagung yang lebih baik. Secara fisiologis tanaman jagung termasuk tanaman C4. Pertumbuhannya memerlukan cahaya yang penuh. Golongan tanaman C4 ini juga lebih efisien dalam memanfaatkan CO<sub>2</sub> yang diperlukan dalam proses fotosintesis. Hal ini dapat berlangsung karena tanaman jagung memiliki sel seludang daun atau *bundle sheath cells* (Riwandi *et al.*, 2014).

Produksi jagung nasional mencapai 23,6 juta ton pada tahun 2016 dengan produktivitas 53,05 kwintal/ha. Produktivitas jagung di lahan kering Kalimantan Selatan hanya sekitar 0,9 - 2,0 t/ha karena kondisi lahan yang miskin bahan organik (Hasbianto dan Sumanto, 2008). Produktivitas jagung nasional pada tahun 2017 mengalami penurunan dari tahun 2016. Produktivitas tahun 2016 yaitu 53,05





kwintal/ha turun menjadi 52,00 kwintal/ha pada tahun 2017 dengan kata lain pertumbuhan produktivitas jagung pada tahun 2017 terhadap 2016 yaitu -1,98%.

## 2.9. Biolog

Biolog merupakan sebuah alat untuk mengidentifikasi mikroba diantaranya bakteri aerobik, bakteri anaerobik, *yeast*, dan fungi berfilamen. Biolog merupakan generasi terbaru dalam identifikasi dan pengujian gram-negatif dan gram-positif untuk bakteri aerobik dalam panel pengujian yang sama. Pewarnaan gram dan pra-test lainnya tidak lagi diperlukan, tapi menggunakan *set up* protokol selesai dalam satu menit untuk setiap sampel. Perangkat Omnilog GEN III dapat menganalisa kemampuan sel untuk metabolisme semua kelas utama senyawa biokimia, selain menentukan sifat fisiologis penting lainnya seperti pH, salinitas, toleransi asam laktat, kekuatan reduksi, dan sensitivitas terhadap senyawa kimia (Biolog, 2011).

Teknologi pemanfaatan sumber karbon biolog mampu mengidentifikasi karakteristik lingkungan dan patogenitas mikroorganisme dengan menciptakan pola karakteristik atau "sidik jari metabolisme" dari rangkaian pengujian berbeda yang dilakukan secara bersamaan pada 96 *microplate*. Pola tersebut dibandingkan dengan *database* yang ada pada perangkat lunak biolog yaitu Microlog™ untuk tujuan identifikasi. Pengujian sumber karbon sangat sederhana karena tidak perlu adanya penambahan bahan kimia setelah inkubasi. *Database* berisi lebih dari 350 taksa bakteri anaerob termasuk lebih dari 70 jenis bakteri asam laktat. Cairan kultur diuji dengan panel pre-test, kemudian diinkubasi, dibaca, dan dibandingkan dengan *database* dari karakteristik lingkungan organisme, patogen manusia, patogen hewan, dan patogen tanaman. Cakupan reaksi dari 96 *well* pada *microplate* digabung dengan perangkat interpretasi yang canggih menghasilkan akurasi tinggi yang sebanding dengan metode molekuler (Biolog, 2011).



### III. METODE PENELITIAN

#### 3.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Kegiatan penelitian dilaksanakan pada bulan November 2017 – April 2018 di Laboratorium Biologi dan Rumah Kaca, Balai Penelitian Tanah, Jalan Tentara Pelajar No.12 Cimanggu, Bogor, Jawa Barat.

#### 3.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang diperlukan dalam melakukan pengujian ini, yakni timbangan *electronic balance*, *autoclave*, *Laminar Air Flow Cabinet* (LAFC), *gas chromatography*, spektrofometer uv-vis dan serapan atom, mikroskop Olympus DP2-BSW, mesin *semi-automated Omnilog microplate reader*, lemari pendingin, *automatic shaker*, cawan petri, pembakar bunsen, *vortex mixer*, *glass jar*, botol kecil, oven, *hot plate stirer*, *magnetic stirer*, tip, mikropipet, erlenmeyer, *test tube*, kuvet, kertas whatman no.1, labu ukur, gelas ukur, tabung setrifus, sudip, batang penyebar, *microwave*, plastik parafilm, korek api, jarum ose, *pot plastik*, dan kamera. Alat lain yang mendukung kegiatan pengujian ini ialah spirtus, tisu, kapas, pinset, kertas label, plastik *wrapping*, aluminium foil, spidol permanen, penggaris, akuades, alkohol 70%, plastik anti panas ukuran 2 kg, karet gelang, serta alat tulis.

Bahan yang digunakan adalah sampel tanah yang diambil dari lahan kering di Bali dengan penggunaan lahan (*landuse*) yang berbeda sebanyak 9 profil dengan 9 penggunaan lahan yang berbeda (Lampiran 3). Bahan lain yang digunakan adalah benih jagung, media *Nutrient Agar* (NA) instan dan *bacto agar* yang digunakan sebagai media pertumbuhan bakteri dalam isolasi, garam fisiologis ( $\text{NaCl}$  0,85%),  $\text{H}_2\text{SO}_4\text{5N}$ ,  $(\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6.1/2\text{H}_2\text{O})$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}.4\text{H}_2\text{O}$ , asam askorbat, media *Natrium Broth* (NB), media *Lysogeny Broth* (LB), media pikovskaya, media JNFB semi solid, media alexandrov (Lampiran 1), dan pupuk anorganik (urea, SP36, dan KCl).

#### 3.3. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 10 perlakuan yang diulang sebanyak 4 kali, disajikan dalam Tabel 1. Terdapat 40 pot percobaan dengan rincian perlakuan sebagai berikut:

**Tabel 1. Rincian Perlakuan Percobaan**

| No. | Kode                  | Rincian  |
|-----|-----------------------|--|
| 1.  | Formula negatif (F0-) | 3 kg Tanah   |
| 2.  | Formula positif (F0+) | 3 kg Tanah + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)  |
| 3.  | Formula 1 (F1)        | 3 kg Tanah + Isolat Bakteri B.5.4.1 + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)   |
| 4.  | Formula 2 (F2)        | 3 kg Tanah + Isolat Bakteri B.3.4.7 + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)   |
| 5.  | Formula 3 (F3)        | 3 kg Tanah + Isolat Bakteri PG2T5 + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)   |
| 6.  | Formula 4 (F4)        | 3 kg Tanah + Isolat Bakteri PG3TT2 + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)  |
| 7.  | Formula 5 (F5)        | 3 kg Tanah + Isolat Bakteri PbSM2.1 + 100% NPK (Urea, SP36, KCl)   |
| 8.  | Formula 6 (F6)        | 3 kg Tanah + Konsorsium (Isolat Bakteri B.5.4.1, B.3.4.7, PG2T5, PG3TT2, dan PbSM2.1) + 100% NPK (Urea, SP36, KCl) |
| 9.  | Formula 7 (F7)        | 3 kg Tanah + Konsorsium (Isolat Bakteri B.5.4.1, B.3.4.7, PG2T5, PG3TT2, dan PbSM2.1) + 75% NPK (Urea, SP36, KCl)  |
| 10. | Formula 8 (F8)        | 3 kg Tanah + Konsorsium (Isolat Bakteri B.5.4.1, B.3.4.7, PG2T5, PG3TT2, dan PbSM2.1) + 50% NPK (Urea, SP36, KCl)  |

### 3.4. Pelaksanaan Penelitian

Kegiatan yang dilaksanakan dalam penelitian ini adalah isolasi bakteri, dilusi (pengenceran), pemurnian, uji kualitatif (autentifikasi pada media JNFB semi solid serta skrining pada media pikovskaya dan alexandrov), uji kuantitatif isolat bakteri, uji patogenitas, uji hipersensitivitas, uji kompatibel, identifikasi bakteri, dan inokulasi bakteri terpilih pada benih tanaman jagung.

#### 3.4.1. Isolasi Bakteri

Sampel tanah masing-masing ditimbang sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam 90 mL garam NaCl 0,85% steril kemudian dihomogenkan menggunakan *automatic shaker* pada suhu ruang dengan kecepatan 100 rpm selama 3 jam. Pengenceran bertingkat atau berseri dilakukan sebanyak 8 (delapan) tingkatan yaitu  $10^{-1}$  sampai dengan  $10^{-8}$  dengan pengambilan sebanyak 1000  $\mu$ L. Sebanyak



100  $\mu\text{L}$  dari masing-masing sampel pengenceran  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , dan  $10^{-8}$  disebar pada media NA yang dilakukan secara duplo. Biakan diinkubasi pada suhu ruang selama  $\pm 2 - 4$  hari.

#### 3.4.2. Pemurnian Bakteri

Pemurnian bakteri yaitu suatu kegiatan untuk memisahkan atau memindahkan bakteri tertentu dari lingkungannya sehingga diperoleh kultur murni. Proses pemurnian isolat bakteri bertujuan untuk mendapatkan koloni murni mikroba yang ditumbuhkan sebelumnya. Koloni bakteri yang mempunyai keragaman berbeda dalam satu horizon kemudian dimurnikan pada media yang sama yaitu media NA padat.

#### 3.4.3. Uji Fungsional (Penambat N, Pelarut P, dan K) Isolat Bakteri Secara Kualitatif

##### 3.4.3.1. Uji Autentifikasi (Penambat N)

Uji Autentifikasi Penambat N bertujuan untuk mengetahui apakah bakteri tersebut dapat menambat nitrogen bebas menggunakan media JNFB semi solid pada *test tube*. Sebanyak satu ose biakan padat bakteri diinokulasikan ke dalam media JNFB semi solid yang dilakukan dua ulangan. Biakan diinkubasi selama  $\pm 2 - 4$  hari pada suhu ruang. Pengamatan dan analisis dilakukan dengan mengamati bentuk cincin atau disebut dengan pelikel melingkar dibagian atas permukaan media JNFB semi solid. Terbentuknya pelikel pada permukaan media JNFB semi solid ini menunjukkan bahwa bakteri ini merupakan mikroorganisme mikro aerofilik yang merupakan mikroorganisme yang membutuhkan oksigen dalam jumlah yang terbatas karena jumlah oksigen akan menghambat kerja enzim oksidatif dan menimbulkan kematian.

##### 3.4.3.2. Skrining (Pelarut P dan K)

Analisis kemampuan bakteri dalam melarutkan P dan K. Salah satu media yang dapat digunakan untuk menumbuhkan bakteri untuk pengujian unsur P ialah menggunakan media pikovskaya, sementara untuk unsur K dapat menggunakan media alexandrov. Kegiatan yang dilakukan ialah memindahkan bakteri ke dalam masing-masing media padat pikovskaya



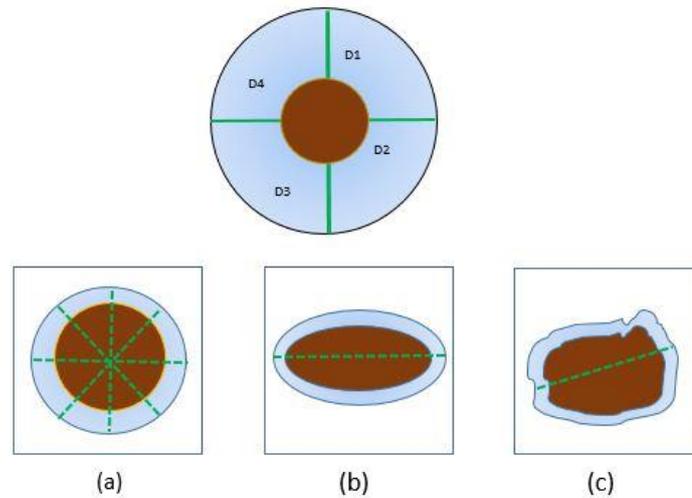
dan alexandrov dengan 2 ulangan. Cawan petri yang terdapat media pikovskaya dan alexandrov dibuat garis menjadi 6 bagian. Setelah petri tersebut dibagi menjadi 6 bagian, kemudian memberi label sesuai dengan bakteri pada media NA sebelumnya. Selanjutnya, menggunakan ose untuk mengambil bakteri yang akan dibiakan padamasing-masing media padat. Setelah itu media diseming dan disimpan dalam ruang inkubasi pada suhu ruang selama  $\pm 2 - 4$  hari.

Pengamatan bakteri yang dapat diamati ialah zona bening yang terdapat dalam sekitar media tersebut. Zona bening yang terbentuk disekeliling koloni merupakan indikasi bahwa isolat mampu melarutkan fosfat kompleks. Zona bening pada agar dapat terbentuk akibat kemampuannya secara aktif dalam memecah trikalsium fosfat ( $\text{Ca}_3[\text{PO}_4]_2$ ). Zona bening yang terbentuk disekitar koloni diukur dan menghitung indeks pelarutan (IP) fosfat menurut (Edi-Premono *et al.*, 1996) untuk mengetahui daya degradasi bakteri terhadap fosfat dengan persamaan di bawah ini:

$$IP = \frac{\text{Diameter Koloni} + \text{Diameter Zona Bening}}{\text{Diameter Koloni}}$$

Setelah diinkubasi selama 14 hari, diukur zona bening disekeliling koloni yang mengindikasikan adanya kelarutan fosfat. Metode pengukuran luas zona bening dilakukan dengan menggunakan rumus berikut sesuai dengan metode yang digunakan oleh Premono (1996) yang diilustrasikan pada gambar berikut ini:

$$\text{Luas Zona Bening} = \frac{D1 + D2 + D3 + D4}{4}$$



Keterangan :  : Zona bening  : Koloni Bakteri  : Bagian yang Diukur

**Gambar 1.** Cara Pengukuran Zona Bening: (a) bakteri yang memiliki bentuk lingkaran sempurna (b) bakteri yang berbentuk lingkaran tidak sempurna (c) bakteri yang tidak berbentuk

#### 3.4.4. Uji Fungsional (Penambat N, Pelarut P, dan K) Isolat Bakteri Secara Kuantitatif

##### 3.4.4.1. Uji ARA melalui Pengukuran Aktivitas Nitrogenase

Isolat bakteri yang ditumbuhkan pada media JNFB semi solid diganti tutup kapasnya dengan tutup karet. Gas yang ada di dalam tabung diambil sebanyak 1 mL dengan *microsyringe* kemudian diinjeksikan gas asetilen ( $C_2H_2$ ) dengan volume yang sama, diinkubasi selama 1 jam. Setelah diinkubasi, gas pada bagian *headspace* diambil kembali sebanyak 1 mL untuk diukur konsentrasi etilen ( $C_2H_4$ ) yang terbentuk dengan menggunakan teknik kromatografi gas (Hawkes, 2001 dalam Susilowati dan Mamik, 2016). Analisis kuantitatif aktivitas nitrogenase sampel dilakukan dengan menggunakan metode *Acetylene Reduction Assay* (ARA).

##### 3.4.4.2. Pengukuran Nilai Absorbansi

Estimasi kuantitatif P yang dilarutkan oleh isolat bakteri terpilih dilakukan berdasarkan metode Lynn *et al.* (2013). Sebanyak 1 ose kultur bakteri diinokulasikan ke dalam 100 mL media pikovskaya cair, dan diinkubasi dalam inkubator goyang atau *shaker* selama 14 hari pada suhu



ruang dengan cara yang sama pada media pikovskaya cair yang tidak diinokulasikan isolat bakteri sebagai perlakuan kontrol. Reagen yang digunakan dalam analisis fosfat bebas adalah  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5N = 14 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  diencerkan menjadi 100 mL dengan akuades (larutan A), 0,324 gram ( $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}$ ) dilarutkan dalam akuades, sehingga volumenya menjadi 100 mL (larutan B), 4 g  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  dilarutkan dalam akuades, sehingga volumenya menjadi 100 mL (larutan C), 1,76 g asam askorbat dilarutkan dalam akuades, sehingga volumenya menjadi 100 mL (larutan D). Reagen tersebut dicampurkan dengan mengambil 10 mL larutan A + 1 mL larutan B + 3 mL larutan C + 6 mL larutan D, lalu dikocok hingga homogen. Selanjutnya saring 20 mL biakan dengan kertas saring (whatman no. 1) disentrifus pada 1000 rpm selama 15 menit, kemudian ke dalam 5 mL supernatan hasil sentrifugasi ditambahkan 0,5 mL campuran reagen (A+B+C+D) dan diinkubasi selama 15-30 menit. Fosfat bebas diukur menggunakan spektrofotometer uv-vis pada panjang gelombang 693 nm. Kurva standar berturut-turut 0; 0,5; 1; 1,5; dan 2,5 ppm  $\text{PO}_4^{3-}$ . Standarisasi digunakan  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  yang dibuat berdasarkan ppm yang diinginkan.

Estimasi kuantitatif K yang dilarutkan oleh isolat bakteri terpilih dilakukan berdasarkan metode Parmar dan Sindhu (2013). Sebanyak 1 ose biakan bakteri diinokulasikan ke dalam 50 mL media alexandrov cair dan diinkubasi dalam inkubator goyang selama 25 hari pada suhu ruang. Sebanyak 3 mL kultur bakteri disentrifugasi pada kecepatan 1000 rpm selama 15 menit untuk memisahkan koloni bakteri dari supernatan. Jumlah kalium terlarut dalam supernatan diukur dengan spektrofotometer serapan atom shimadzu AA-7000 dengan flame air- $\text{C}_2\text{H}_2$  pada panjang gelombang 766,5 nm. Kurva standar dibuat dengan menggunakan konsentrasi KCl untuk standar 0, 0,5, 1, 1,5, dan 2 ppm.

### 3.4.5. Uji Patogenitas Bakteri melalui Reaksi Hipersensitif

Uji reaksi hipersensitif dilakukan untuk menentukan isolat bakteri yang diuji tidak bersifat patogen pada tanaman. Reaksi hipersensitivitas dilakukan



dengan menyuntikkan suspensi bakteri ke dalam jaringan daun tembakau. Perkembangan gejala nekrosis diamati hingga 2 hari.

Uji patogenisitas dengan menggunakan agar darah (*blood agar*) dilakukan dengan menggores isolat di atas media agar darah yang telah memadat kemudian diinkubasi dengan suhu ruang selama 24 jam. Terbentuknya zona bening menunjukkan bahwa isolat mampu melisis darah. Proses lisis sempurna terlihat dari zona yang benar-benar jernih, proses hemolisis tidak sempurna memperlihatkan media berwarna kehijauan. Proses lisis yang tidak nyata menyebabkan tidak terjadi perubahan warna pada media.

#### 3.4.6. Uji Kompatibilitas

Masing-masing isolat bakteri digoreskan bersinggungan satu sama lain menggunakan metode gores sehingga antar isolat akan bertemu. Inkubasi selama 24 jam dan diamati apakah terdapat zona bening atau zona hambat diantara dua isolat yang bersinggungan. Isolat dikatakan kompatibel apabila tidak terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat, dan dikatakan tidak kompatibel apabila terdapat zona penghambatan pada daerah pertemuan kedua isolat tersebut.

#### 3.4.7. Inokulasi Bakteri Potensial pada Benih Jagung

##### 3.4.7.1. Inokulasi Bakteri pada Media Cair

Inokulasi bakteri bertujuan untuk menumbuhkan bakteri ke dalam media cair NB (*Natrium Broth*). Adapun cara dalam inokulasi bakteri ke dalam media NB cair yaitu mengambil sebanyak 1 ose bakteri yang telah diremajakan atau dimurnikan. Ose yang digunakan harus steril yaitu dengan membakar ose tersebut hingga membara. Selanjutnya ose yang berisi bakteri tersebut dimasukkan ke dalam media NB. Kemudian beri label sesuai isolat dan *dishaker* untuk menghomogenkan bakteri ke dalam media cair tersebut. Lama waktu untuk *shaker* yaitu  $\pm 3$  hari dengan kecepatan 100 rpm berada pada suhu ruang.

##### 3.4.7.2. Inokulasi Bakteri pada Benih Jagung

Terdapat 10 perlakuan yaitu perlakuan formula negatif, formula positif, formula 1, formula 2, formula 3, formula 4, formula 5, formula 6,



formula 7, dan formula 8. Media NB cair yang telah diinokulasi masing-masing perlakukan bakteri yang diinginkan selanjutnya larutan tersebut dituangkan sebanyak  $\pm$  20 mL ke dalam cawan petri yang berisi masing-masing 10 benih jagung dan didiamkan selama 15 – 30 menit, kegiatan tersebut dilakukan pada ruang LAFK dengan kerja aseptis. Varietas benih jagung yang digunakan yaitu bisma. Kemudian setelah benih tersebut diinokulasi dengan cara digoyangkan, tujuannya ialah supaya isolat bakteri mengenai benih jagung secara merata.

#### 3.4.7.3. Penanaman Benih Jagung

Benih jagung ditanam sesuai dengan penomoran label yang terdapat dalam cawan petri. Pada setiap pot berisi 3 kg media tanam diberikan 3 benih jagung dengan kedalaman  $\pm$  1 – 1,5 cm dari permukaan tanah. Namun pada saat mulai pengamatan fase vegetatif hanya menyisakan 1 tanaman jagung pada tiap pot plastik. Selanjutnya tanah yang telah berisi benih diberi air secukupnya. Pengamatan dilakukan pada setiap pertumbuhan benih jagung sesuai perlakuan dan parameter yang digunakan.

#### 3.4.7.4. Pemupukan

Pupuk anorganik yang diperlukan adalah urea 300 kg/ha, SP-36 150 kg/ha dan KCl 100 kg/ha. Pupuk anorganik dilakukan pada saat 7 HST dan 21 HST dengan cara ditugal dan ditutup kembali untuk mencegah kehilangan unsur hara.

#### 3.4.7.5. Pemeliharaan dan Pengamatan

Penyiraman tanaman jagung dilakukan setiap hari yaitu pagi atau sore hari untuk mencegah tanaman jagung kering dan dilakukan penyiangan jika terdapat gulma yang tumbuh disekitar tanaman jagung yang dapat mengganggu pertumbuhan. Penyiraman dilakukan tidak terlalu basah atau terlalu kering. Pengamatan tinggi tanaman dan jumlah daun dilakukan pada saat 5 HST, 7 HST, 11 HST, 15 HST, 19 HST, 23 HST, 27 HST, dan 30 HST. Sementara untuk berat basah, berat kering, dan panjang akar tanaman jagung dilakukan pada saat 30 HST.



### 3.4.8. Identifikasi Bakteri

Bakteri potensial yang mempunyai kemampuan fungsional tinggi dikarakterisasi sampai tingkat spesies menggunakan kombinasi karakterisasi secara makroskopis, mikroskopis, dan uji biokimia. Pengamatan makroskopis adalah pengamatan bentuk pertumbuhan koloni bakteri yang tumbuh dipermukaan medium padat. Parameter karakter koloni meliputi bentuk koloni, permukaan, tepi, warna, dan optikal koloni.

Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan mengamati bentuk sel, ukuran sel, motilitas, dan pewarnaan gram menggunakan preparat gantung yang diamati dibawah mikroskop *Olympus DP2-BSW* perbesaran 1000x. Uji biokimia menggunakan Biolog model ELX808BLG serial 1306184 dengan Buffer IF-A. Prosedur kerja sesuai dengan buku panduan biolog yaitu sebagai berikut:

- a. Kultur murni diremajakan pada media NA, diinkubasi tidak lebih dari 24 jam (khusus untuk bakteri penghasil spora ditanam kurang dari 16 jam).
- b. Buffer IF-A diinokulasi dengan isolat bakteri menggunakan *cotton bud (tampon swab)* steril. Buffer yang sudah diinokulasi bakteri, kemudian diukur kepadatan selnya menggunakan turbidimeter sampai diperoleh *percent transmittance* menunjukkan angka 98 (absorbansi 0,2).
- c. Larutan buffer dimasukkan ke dalam wadah steril, kemudian diambil dengan menggunakan mikropipet dan dimasukkan ke dalam *microplate 96 well* masing-masing 100  $\mu$ L.
- d. Sampel diinkubasi pada suhu ruang selama 16 – 24 jam, sampel kemudian dimasukkan ke dalam *Biolog Microstation* untuk dilakukan pembacaan berdasarkan karakter uji biokimia bakteri yang diidentifikasi dan dicocokkan dengan *database* yang ada di komputer.

### 3.5. Parameter Pengamatan

Pengamatan yang dilakukan meliputi (1) kemampuan bakteri potensial dan (2) tanaman jagung. Tanaman jagung diamati berdasarkan tinggi tanaman dan jumlah daun yang dilakukan pada umur 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, dan 30 HST.

Kemudian tanaman jagung yang diamati lainnya ialah panjang akar, berat basah, dan berat kering yang dilakukan pada 30 HST. Parameter penelitian yaitu:

**Tabel 2.** Rincian Parameter Pengamatan

| Objek   | Parameter  | Metode   | Waktu (HST/HSI)              |
|---------|--|--|------------------------------|
| Bakteri | Uji autentifikasi pada isolat penambat N, skrining pada isolat pelarut P dan K   | Pengukuran : (Luas zona bening dan indeks pelarutan P dan K) | ± 2-4                        |
|         | Aktivitas nitrogenase pada isolat penambat N,  | Gas Chromatography (( $\mu\text{mol}/\text{mL}$ )/jam)       | 14                           |
|         | Nilai absorbansi pada isolat pelarut P dan K   | Spektrofotometri uv-vis dan serapan atom (ppm)               | 14                           |
|         | Uji patogenitas bakteri melalui reaksi hipersensitif (media blood agar, dan uji pada daun tembakau) serta uji kompatibilitas | Kualitatif   | 2                            |
| Tanaman | Tinggi Tanaman   | Pengukuran (cm)  | 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 30 |
|         | Panjang Akar   |  | 30                           |
| Tanaman | Berat Basah  | Tanaman Akar   | Pengukuran (g)               |
|         | Berat Kering   | Tanaman Akar   | 30                           |
|         | Jumlah Daun  | Perhitungan (helai)  | 5, 7, 11, 15, 19, 23, 27, 30 |

Keterangan : HST – Hari Setelah Tanam; HSI – Hari Setelah Inokulasi

### 3.6. Analisis Data

Data-data yang diperoleh disusun menggunakan program *Microsoft Excel* serta SPSS dan analisis keragaman setiap perlakuan menggunakan analisis ragam *Analysis of Variance* (ANOVA), kemudian dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) 5% untuk mengetahui perbedaan antar perlakuan.

Apabila  $F_{\text{hitung}} < F_{\text{tabel}} 5\%$  maka perlakuan tersebut tidak berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati, sedangkan apabila  $F_{\text{hitung}} > F_{\text{tabel}} 5\%$  maka perlakuan tersebut berpengaruh nyata terhadap variabel yang diamati.



## IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1. Hasil

#### 4.1.1. Kemampuan Isolat Bakteri dalam Menambat N, Melarutkan P dan K

Hasil kemampuan isolat bakteri didapatkan 11 isolat dapat menambat nitrogen, 26 isolat dapat melarutkan fosfat, dan 24 isolat dapat melarutkan kalium.

Pengujian tersebut dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Berikut merupakan rincian data yang tersajikan pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil Uji Isolat Bakteri dalam Menambat N, Melarutkan P dan K

| NO. | Kode Isolat | Uji Kualitatif |      | Uji Kuantitatif                   |            |            |
|-----|-------------|----------------|------|-----------------------------------|------------|------------|
|     |             | N              | IP   | N<br>(( $\mu\text{mol/mL}$ )/jam) | P<br>(ppm) | K<br>(ppm) |
|     |             |                |      |                                   |            |            |
| 1.  | B.1.2.5     | -              | -    | 1,26                              | -          | 2,01       |
| 2.  | B.1.3.6     | -              | -    | 1,22                              | -          | 1,95       |
| 3.  | B.1.4.9     | pelikel        | 1,19 | -                                 | 0,0017     | 2,90       |
| 4.  | B.1.5.1     | -              | 1,27 | -                                 | -          | 1,74       |
| 5.  | B.1.5.2     | -              | 1,21 | -                                 | -          | 2,40       |
| 6.  | B.1.5.9     | -              | 1,20 | 1,15                              | -          | 6,67       |
| 7.  | B.1.5.11    | pelikel        | 1,35 | 1,16                              | 0,0008     | 8,47       |
| 8.  | B.2.1.5     | -              | 1,23 | 1,14                              | -          | 3,31       |
| 9.  | B.2.2.8     | -              | 1,12 | 1,23                              | -          | 2,69       |
| 10. | B.2.3.1     | pelikel        | -    | 1,16                              | 0,0027     | 3,25       |
| 11. | B.2.3.2     | -              | 1,28 | -                                 | -          | 3,43       |
| 12. | B.2.3.3     | -              | 1,12 | 1,11                              | -          | 3,87       |
| 13. | B.2.3.4     | -              | 1,25 | 1,25                              | -          | 2,67       |
| 14. | B.2.3.7     | pelikel        | 1,26 | 1,21                              | 0,0018     | 2,54       |
| 15. | B.3.3.3     | pelikel        | 1,19 | 1,20                              | 0,0035     | 2,23       |
| 16. | B.3.4.7     | -              | 1,18 | 1,10                              | -          | 14,18      |
| 17. | B.4.2.2     | pelikel        | -    | 1,12                              | 0,0001     | -          |
| 18. | B.4.3.6     | -              | 1,16 | 1,12                              | -          | 10,47      |
| 19. | B.5.3.3     | -              | 1,16 | 1,22                              | -          | 6,66       |
| 20. | B.5.4.1     | -              | 1,18 | 1,13                              | -          | 14,90      |
| 21. | B.5.4.9     | pelikel        | 1,26 | 1,12                              | 0,0019     | 4,53       |
| 22. | B.6.2.1     | -              | -    | 1,27                              | -          | -          |
| 23. | B.6.2.5     | pelikel        | -    | 1,25                              | 0,0029     | 4,09       |
| 24. | B.6.2.7     | -              | -    | 1,27                              | -          | 3,18       |
| 25. | B.6.2.10    | pelikel        | -    | -                                 | 0,0078     | -          |
| 26. | B.6.3.10    | -              | 1,14 | 1,16                              | -          | 4,43       |
| 27. | B.6.4.5     | -              | 1,15 | 1,16                              | -          | 3,25       |
| 28. | B.6.5.3     | pelikel        | 1,27 | -                                 | 0,0013     | 1,08       |
| 29. | B.6.5.5     | -              | 1,18 | -                                 | -          | 3,25       |
| 30. | B.6.5.10    | -              | 1,26 | -                                 | -          | 0,08       |
| 31. | B.7.1.3     | -              | 1,12 | 1,10                              | -          | 0,50       |
| 32. | B.7.2.7     | -              | 1,29 | -                                 | -          | 0,28       |
| 33. | B.9.1.1     | pelikel        | 1,17 | 1,19                              | 0,0014     | 0,98       |
| 34. | B.9.4.1     | -              | 1,08 | -                                 | -          | 4,43       |

Keterangan : (-) : Tidak Terbentuk Zona Bening





#### 4.1.1.1. Pengujian Bakteri Penambat Nitrogen (N)

Uji autentifikasi bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri yang telah diinokulasi sebelumnya merupakan bakteri yang dapat menambat N<sub>2</sub> bebas. Media selektif yang digunakan untuk menguji aktivitas nitrogenase pada penelitian ini adalah media JNFB semi solid.

Penambatan nitrogen dilakukan karena komposisi media yang tidak mengandung unsur nitrogen sama sekali dan mampu menyediakan nutrisi lain yang dibutuhkan oleh bakteri (Nurosid *et al.*, 2008). Perubahan yang terjadi yaitu terdapat pelikel dan warna media berubah yang awalnya bewarna hijau muda menjadi biru pekat. Perubahan warna yang terjadi pada media JNFB semi solid terjadi karena adanya indikator berupa *bromothymol blue* yang berubah menjadi biru pada pH yang lebih tinggi, akibat aktivitas nitrogenase. Menurut Susilowati (2007), pelikel yang dihasilkan oleh bakteri pada media JNFB semi solid disebabkan di dalam medium tidak ada kelebihan oksigen, laju difusi oksigen sama dengan laju respirasi organisme merupakan kondisi yang baik untuk aktivitas enzim nitrogenase yang membantu mereduksi asetilen menjadi etilen.

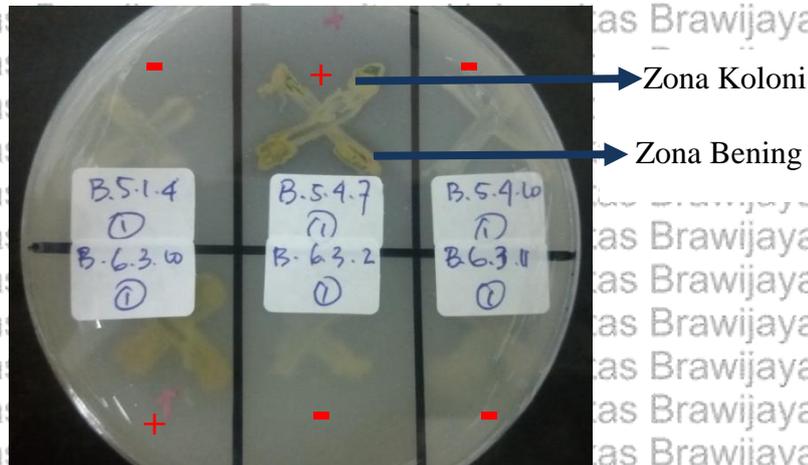
Sebanyak 11 isolat bakteri dapat tumbuh pada media JNFB semi solid disajikan pada Tabel 1. Isolat tersebut selanjutnya dianalisis aktivitas nitrogenase secara kualitatif pada media yang sama. Hasil pengamatan menunjukkan adanya aktivitas nitrogenase pada media. Aktivitas nitrogenase pada sampel ditandai dengan terbentuknya pelikel putih dekat pada permukaan media. Saat jumlah nitrogen di dalam media telah terakumulasi maka pelikel akan berpindah ke permukaan media.

#### 4.1.1.2. Pengujian Bakteri Pelarut Fosfat (P)

Fosfor merupakan salah satu unsur hara yang mutlak dibutuhkan oleh tanaman karena berperan dalam menyimpan dan mentransfer energi serta sebagai komponen protein dan asam nukleat. Bakteri pelarut fosfat (BPF) di dalam tanah mempunyai kemampuan melepas fosfor (P) dari ikatan Fe, Al, Ca dan Mg, sehingga P yang tidak tersedia menjadi tersedia bagi tanaman (Rao, 1994). Pada uji pelarut fosfat digunakan media selektif pikovskaya untuk mengetahui isolat bakteri yang termasuk pelarut fosfat.



Isolat yang memiliki kenampakan halozone atau zona bening yang terbentuk pada sekeliling bakteri diansumsikan bahwa bakteri tersebut merupakan bakteri pelarut fosfat karena kemampuannya secara aktif dalam memecah *tri-kalsium di-fosfat*  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  dari media pikovskaya (Gambar 2).



**Gambar 1.** Kemampuan Isolat Bakteri Melarutkan Fosfat

Keterangan: (+) : Dapat Melarutkan Fosfat (Halozone)

(-) : Tidak Dapat melarutkan Fosfat

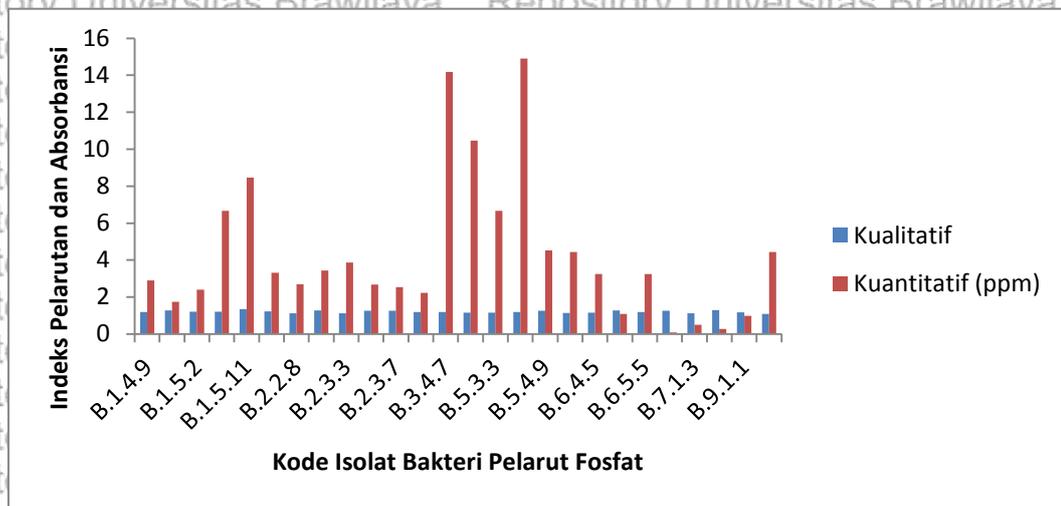
Pengamatan halozone dilakukan pada 3 HSI. Ciri dari halozone adalah adanya zona bening disekitar koloni bakteri pada media tersebut.

Halozone tersebut kemudian dijadikan bahan uji kualitatif dengan menghitung luas zona bening dan seperti yang telah disajikan pada Gambar 2. Hasil pengujian bakteri pelarut P, diketahui 26 isolat yang menunjukkan adanya zona bening karena berpotensi mampu melarutkan fosfat pada media pikovskaya disajikan pada Tabel 4. Pelarutan fosfat terjadi karena bakteri dapat menghasilkan asam organik seperti asetat, laktat, oksalat, tartrat, suksinat, sitrat, glukonat, ketoglukonat, dan glikolat sehingga terbentuk halozone pada media (Katznelson *et al.*, 1962 dan Baig *et al.*, 2010). Sedangkan isolat bakteri yang tidak menunjukkan adanya zona bening kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan asam organik yang diproduksi oleh setiap isolat atau isolat bakteri tersebut tidak menghasilkan asam organik yang melarutkan fosfat.

Diameter zona bening yang dihasilkan dari masing-masing isolat bakteri berbeda-beda, hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan fosfat juga berbeda-beda.



Sedangkan untuk nilai indeks kelarutan fosfat yang dihasilkan masing-masing isolat bakteri juga berbeda ditunjukkan pada Gambar 3.



**Gambar 2.** Indeks Pelarutan dan Nilai Absorbansi Isolat Bakteri Pelarut Fosfat

Berdasarkan grafik di atas, dapat dilihat bahwa isolat dengan kode B.1.5.11 memiliki indeks pelarutan fosfat paling tinggi sebesar 1,35 sedangkan isolat bakteri dengan kode B.9.4.1 memiliki indeks pelarutan fosfat yang paling rendah sebesar 1,08. Klasifikasi mikroorganisme pelarut fosfat berdasarkan kecepatan (waktu) yaitu cepat jika pelarutan terjadi sebelum 3 HSI dan lambat jika pelarutan lebih dari 5 HSI. Namun indeks pelarutan yang dihasilkan dapat dikategorikan rendah. Hal ini sesuai menurut Novensah *et al.* (2014) nilai indeks pelarutan (IP) diklasifikasikan menjadi 3 yaitu rendah ( $IP < 2,00$ ), *intermediate* ( $2,00 \leq IP \leq 4,00$ ) atau tinggi ( $IP \geq 4,00$ ). Hal ini menunjukkan bahwa isolat dengan kode B.1.5.11 memiliki aktivitas enzim yang tinggi. Menurut Situmorang *et al.* (2015) menyatakan bahwa semakin tinggi aktivitas enzim yang dihasilkan bakteri pelarut fosfat, maka semakin besar zona bening yang dihasilkan. Zona bening terbentuk akibat terlarutnya fosfat tidak terlarut menjadi bentuk terlarut oleh bakteri pelarut fosfat. Hal ini terjadi karena bakteri tersebut menghasilkan enzim fosfatase. Menurut Ranjan *et al.* (2013) enzim fosfatase merupakan sekelompok enzim yang mengkatalisis reaksi mineralisasi hidrolitik secara enzimatik dengan pelepasan fosfat tidak terlarut menjadi terlarut. Selanjutnya Paul dan Sinha (2016) mengatakan



bahwa perubahan warna di sekitar koloni menjadi bening karena terjadinya penurunan pH pada medium.

Isolat bakteri pelarut fosfat yang menghasilkan zona bening, kemudian diuji kemampuannya dalam melarutkan fosfat melalui uji kuantitatif pada media pikovskaya cair. Pada media pikovskaya cair, sel-sel bakteri memanfaatkan nutrisi yang ada dalam media untuk membelah dan berkembang. Pada waktu pembelahan sel, terjadi pembentukan sel-sel baru sehingga BPF membutuhkan fosfat relatif besar. Oleh karena itu, pada waktu yang bersamaan BPF menghasilkan asam-asam organik untuk melarutkan fosfat. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa 26 isolat yang menghasilkan zona bening pada uji kualitatif pada Tabel 4. Hasil yang ditunjukkan pada uji kualitatif belum cukup efektif dalam menentukan bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat.

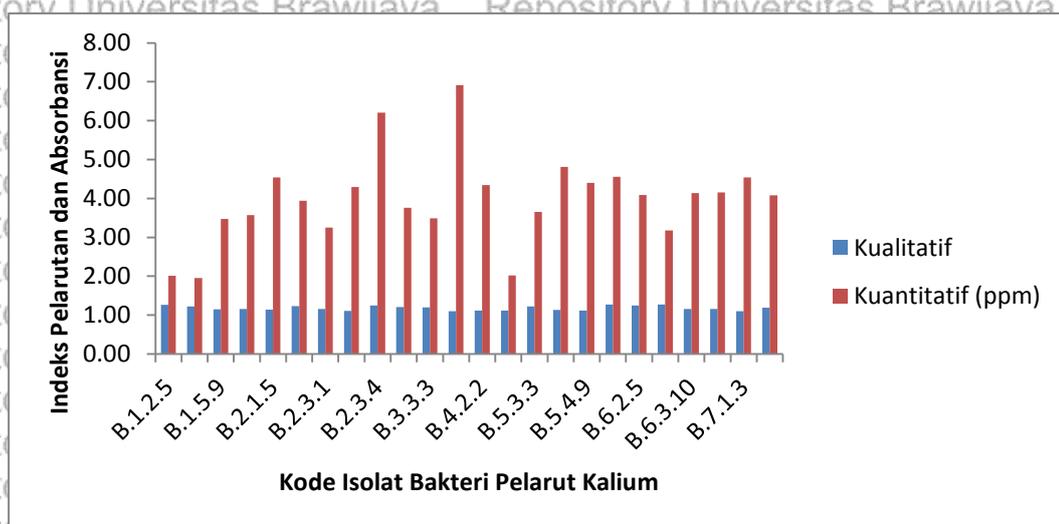
Kurva standar absorbansi diperoleh dengan mengukur nilai standar  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  berbagai konsentrasi dengan menggunakan alat *spektrofotometri uv-vis* (Lampiran 5). Berdasarkan hasil pengujian absorbansi diperoleh persamaan yaitu  $y = 0,198x - 0,093$  dengan besar nilai regresi yang diperoleh yaitu  $R^2 = 0,923$ . Hasil uji secara kuantitatif menunjukkan bahwa kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan fosfat juga berbeda-beda. Nilai absorbansi bakteri pelarut fosfat yang dihasilkan masing-masing isolat bakteri juga berbeda ditunjukkan pada Gambar 3.

Setiap jenis bakteri pelarut fosfat mempunyai kemampuan yang berbeda-beda secara genetik dalam menghasilkan jumlah jenis asam-asam organik yang berperan dalam menentukan tinggi rendahnya pelarutan P. Bakteri dengan kode isolat B.5.4.1 mampu melarutkan fosfat pada  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$  tertinggi yaitu 14,90 ppm sedangkan isolat dengan kode B.6.5.10 hanya mampu melarutkan fosfat terendah sebesar 0,08 ppm. Kemampuan isolat bakteri dalam melarutkan fosfat tidak selalu dilihat berdasarkan indeks pelarutan. Menurut Silaen (2015) menyatakan bahwa daerah bening pada media padat tidak dapat menunjukkan kemampuan setiap bakteri untuk menyumbangkan jumlah fosfat terlarut, meskipun luas sempitnya daerah bening dapat menunjukkan besar kecil bakteri

melarutkan fosfat yang sukar larut. Setiap bakteri pelarut fosfat yang diuji secara kualitatif dan kuantitatif menunjukkan kemampuan dalam meningkatkan kelarutan P pada media pikovskaya cair juga berbeda. Tingginya indeks pelarutan yang dihasilkan pada uji kualitatif belum mampu menunjukkan hasil yang tinggi pada uji kuantitatif (Selvi *et al.*, 2017).

#### 4.1.1.3. Pengujian Bakteri Pelarut Kalium (K)

Pengujian bakteri pelarut kalium (BPK) dilakukan dengan cara inokulasi isolat bakteri pada media alexandrov. Sama halnya pada pengujian bakteri pelarut fosfat, pengamatan halozone atau zona bening dilakukan pada 3 HSI. Hasil pengamatan didapatkan bahwa terdapat 24 isolat menunjukkan adanya halozone pada sekeliling isolat bakteri disajikan pada Tabel 4.



**Gambar 3.** Indeks Pelarutan dan Nilai Absorbansi Isolat Bakteri Pelarut Kalium

Berdasarkan grafik di atas, dapat dilihat bahwa isolat dengan kode B.6.2.1 dan B.6.2.7 memiliki indeks pelarutan kalium paling tinggi sebesar 1,27 sedangkan isolat bakteri dengan kode B.3.4.7 dan B.7.1.3 memiliki indeks pelarutan fosfat yang paling rendah sebesar 1,10.

Isolat bakteri pelarut kalium yang menghasilkan zona bening, kemudian diuji kemampuannya dalam melarutkan kalium melalui uji kuantitatif pada media alexandrov cair. Pada media alexandrov cair, sel-sel bakteri memanfaatkan nutrisi yang ada dalam media untuk membelah dan



berkembang. Pada waktu pembelahan sel, terjadi pembentukan sel-sel baru sehingga BPK membutuhkan kalium relatif besar. Oleh karena itu, pada waktu yang bersamaan BPK menghasilkan asam-asam organik untuk melarutkan kalium. Hasil uji kuantitatif menunjukkan bahwa 24 isolat yang menghasilkan zona bening pada uji kualitatif pada Tabel 4. Hasil yang ditunjukkan pada uji kualitatif belum cukup efektif dalam menentukan bakteri tersebut mampu melarutkan kalium.

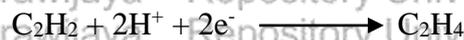
Kurva standar absorbansi diperoleh dengan mengukur nilai standar KCl berbagai konsentrasi dengan menggunakan alat spektrofotometer serapan atom. Berdasarkan hasil pengujian absorbansi diperoleh persamaan yaitu  $Abs = 0,02561 \times C - 0,02516$ . Hasil uji secara kuantitatif menunjukkan bahwa kemampuan masing-masing isolat dalam melarutkan kalium juga berbeda-beda. Nilai absorbansi bakteri pelarut fosfat yang dihasilkan masing-masing isolat bakteri juga berbeda ditunjukkan pada Gambar 4. Bakteri dengan kode isolat B.3.4.7 mampu melarutkan kalium tertinggi yaitu 6,91 ppm sedangkan isolat dengan kode B.1.3.6 hanya mampu melarutkan kalium terendah sebesar 1,95 ppm.

#### 4.1.1.4. Hasil Pengujian ARA (*Acetylene Reduction Assay*)

Pengujian ARA adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui kemampuan enzim nitrogenase untuk mereduksi asetilen ( $C_2H_2$ ) menjadi etilen ( $C_2H_4$ ) (Firrani, 2011). Kepekaan metode yang berdasarkan kromatografi gas dapat mendeteksi aktivitas nitrogenase pada tingkat aktivitas rendah. Menurut Handayanto dan Hairiah (2007) bahwa reaksi reduksi  $N_2$  menjadi amonia adalah:



Konversi asetilen menjadi etilen terjadi melalui reaksi:



Analisis kuantitatif aktivitas nitrogenase menggunakan metode ARA didasarkan pada kemampuan nitrogenase untuk mereduksi beberapa komponen dengan ikatan rangkap tiga selain dinitrogen, yaitu asetilen. Prinsip dasar metode ini adalah menghitung banyaknya gas etilen yang terbentuk dari hasil reduksi asetilen menggunakan kromatografi gas dalam



umol per satuan waktu. Semakin tinggi jumlah gas etilen yang terukur maka semakin tinggi aktivitas nitrogenase pada sampel. Proses perhitungan aktivitas nitrogenase menggunakan kromatografi gas bersifat sangat sensitif karena kepekaannya bisa mencapai pada tingkat yang paling rendah (Rao *et al.*, 1997). Menurut Hardy *et al.* (1996) uji ARA dengan menggunakan kromatografi gas dapat mendeteksi sampel hingga konsentrasi 0,001 umol sehingga keakuratannya tinggi. Tahap pengujian ARA ini diawali dengan melihat aktivitas nitrogenase yang dianalisis secara kualitatif dengan cara menguji kemampuan sampel dalam melakukan penambat nitrogen pada media spesifik.

Sampel yang digunakan pada kegiatan uji ARA ini adalah sebanyak 11 isolat bakteri unggul yang telah diseleksi. Media spesifik yang digunakan untuk menguji aktivitas nitrogenase pada kegiatan pengujian ini adalah media JNFB semi solid yang digunakan untuk menganalisis aktivitas nitrogenase. Penambat nitrogen dilakukan karena komposisi media yang tidak mengandung unsur nitrogen sama sekali dan mampu menyediakan nutrisi lain yang dibutuhkan oleh bakteri (Nurosid *et al.*, 2008). Seleksi kemampuan bakteri dalam menambat nitrogen terlebih dahulu dilakukan secara kualitatif dengan cara melihat ada atau tidaknya pelikel yang terbentuk dekat dengan permukaan media JNFB semi solid pada Gambar 4.



**Gambar 4.** Pelikel pada Media JNFB Semi Solid



Seperti yang telah disebutkan di atas perhitungan konsentrasi reduksi gas asetilen menjadi etilen oleh bakteri terlebih dahulu dilakukan dengan membuat kurva standar etilen yang diperoleh dari deret standar berbagai konsentrasi di atas. Pada hasil pengujian ARA, kurva standar etilen yang didapatkan disajikan pada (Lampiran 4).

Pembuatan kurva standar bertujuan memperoleh suatu persamaan untuk perhitungan konsentrasi etilen dari sampel bakteri yang diuji yaitu bakteri yang sudah diuji *N-Fix* dan menunjukkan terbentuknya pelikel. Kurva standar etilen diperoleh dengan mengukur nilai luas area standar berbagai konsentrasi. Kromatogram yang dihasilkan selanjutnya dibaca dan hasil yang diperoleh kemudian diplotkan menjadi kurva standar etilen yaitu hubungan antara konsentrasi dengan luas area standar untuk mengetahui konsentrasi masing-masing sampel yang diujikan. Berdasarkan hasil pengujian ARA diperoleh persamaan yaitu  $y = 20932x + 1125$  dengan besar nilai regresi yang diperoleh yaitu  $R^2 = 0,951$ .

Pada hasil pengujian ARA didapatkan hasil seperti yang ditampilkan pada Tabel 4 di atas. Terdapat 11 isolat bakteri yang dilakukan uji ARA yang mampu mereduksi gas asetilen menjadi gas etilen atau menunjukkan adanya aktivitas enzim nitrogenase. Pada pengujian yang telah dilakukan, total waktu inkubasi dari seluruh isolat adalah 1 jam. Tiap jenis bakteri memiliki waktu inkubasi optimum yang berbeda. Perbedaan besar aktivitas nitrogenase antar sampel disebabkan oleh perbedaan waktu inkubasi optimum sampel. Menurut Hardy *et al.* (1996) menyatakan pembentukan etilen mencapai nilai tertinggi pada waktu inkubasi optimum untuk tiap jenis yang diujikan. Matsuguchi *et al.* (2000) menyatakan bahwa waktu inkubasi yang terlalu lama dari waktu inkubasi optimum masing-masing jenis dapat menyebabkan etilen yang telah terbentuk terurai kembali menjadi asetilen. Faktor lain yang dapat mempengaruhi besar aktivitas nitrogenase adalah konsentrasi nitrogenase dalam sampel. Aktivitas nitrogenase memiliki hubungan yang linier dengan konsentrasi nitrogenase dalam sampel. Semakin tinggi konsentrasi nitrogenase maka aktivitas nitrogenase pun akan semakin tinggi (Hardy *et*



al., 1996). Berdasarkan hal tersebut, dapat diketahui bahwa sampel B.6.2.10 memiliki konsentrasi nitrogenase terbesar karena memiliki nilai aktivitas nitrogenase paling tinggi yaitu sebesar 0,0078  $\mu\text{mol}/\text{jam}/\text{ml}$  dengan konsentrasi etilennya sebesar 6,1482 ppm. Sebaliknya, sampel B.4.2.2 memiliki konsentrasi nitrogenase paling rendah karena memiliki nilai aktivitas nitrogenase yang paling kecil yaitu hanya sebesar 0,0001  $\mu\text{mol}/\text{jam}/\text{ml}$  dengan konsentrasi etilen yang dimiliki sebesar 0,0469 ppm.

#### 4.1.1.5. Pengujian Patogenitas melalui Reaksi Hipersensitif Isolat Bakteri Terpilih

Pada saat melakukan pengujian ini bertujuan selain untuk mendapatkan atau menentukan isolat bakteri yang bersifat patogen atau non patogen juga untuk menentukan isolat bakteri yang potensial. Sehingga dilakukan beberapa pengujian didalamnya yaitu dengan melakukan uji patogenitas pada media *blood agar* dan uji hipersensitivitas pada daun tanaman tembakau. Tabel hasil pengujiannya dapat dilihat pada Tabel 5 berikut ini.

**Tabel 2.** Hasil Pengujian pada Isolat Bakteri Terpilih

| Kode Isolat | Uji Patogenitas               | Uji Hipersensitivitas |
|-------------|-------------------------------|-----------------------|
|             | Blood Agar                    | Daun Tembakau         |
| B.1.4.9     | patogen (beta hemolisis)      | nekrosis              |
| B.1.5.11    | patogen (beta hemolisis)      | nekrosis              |
| B.2.3.7     | patogen (alpha hemolisis)     | nekrosis              |
| B.5.4.9     | patogen (beta hemolisis)      | nekrosis              |
| B.3.3.3     | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.3.4.7     | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.4.3.6     | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.5.4.1     | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.6.2.10    | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.6.3.10    | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |
| B.9.1.1     | non patogen (gamma hemolisis) | tidak nekrosis        |

Pengujian patogenitas menggunakan media *blood agar* merupakan media pertumbuhan bakteri yang dapat membedakan bakteri yang bersifat patogen berdasarkan efek eksotoksin hemolitik bakteri pada sel darah merah. Selain itu, media *blood agar* memiliki nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan bakteri. Berbagai jenis bakteri dapat tumbuh pada media tersebut karena media *blood agar* merupakan media selektif diferensial



yang mampu mendukung pertumbuhan berbagai organisme serta dapat memberikan ciri khas untuk bakteri golongan tertentu. Hasil yang didapat dalam pengujian ini bahwa isolat bakteri kode B.1.4.9, B.1.5.11, B.2.3.7, dan B.5.4.9 dikatakan patogen (Lampiran 6). Keempat isolat tersebut terbentuk zona bening menunjukkan bahwa isolat mampu melisis darah. Ada tiga jenis hemolisis yaitu beta hemolisis merupakan lisis lengkap sel darah merah, alfa hemolisis mengacu pada lisis parsial atau sebagian dari sel darah merah, dan gamma hemolisis yaitu tidak terjadi hemolisis dikarenakan tidak ada perubahan warna dalam media. Isolat bakteri dikatakan patogen jika tergolong pada beta dan alfa hemolisis dikarenakan pada media sekeliling isolat tersebut mengalami perubahan warna dan terbentuk zona bening.

Sebanyak 11 isolat bakteri terpilih diinjeksikan ke dalam jaringan daun tanaman tembakau mampu menginduksi reaksi hipersensitif. Daun tembakau menjadi kecoklatan pada area masuknya bakteri. Reaksi ini paling jelas teramati 48 jam atau 2 hari setelah penyuntikan. Namun reaksi yang sama ditunjukkan oleh daun tembakau yang diinokulasi dengan kode isolat B.1.4.9, B.1.5.11, B.2.3.7, dan B.5.4.9 yaitu dengan munculnya bercak kekuningan hingga coklat pada permukaan daun yang biasa disebut dengan nekrosis. Reaksi hipersensitif merupakan program kematian sel yang cepat dan terlokalisasi. Reaksi ini muncul pada tanaman yang terinfeksi saat pengenalan patogen.

Setelah melakukan uji patogenitas dan hipersensitivitas terhadap 11 isolat bakteri terpilih dinyatakan sebanyak 4 isolat bersifat patogen dan 7 isolat bakteri bersifat non patogen. Isolat bakteri terpilih yang bersifat non patogen tersebut akan menuju uji kompatibilitas kemudian inokulasi pada benih tanaman yang bertujuan untuk membantu meningkatkan ketersediaan nutrisi dan hara yang dibutuhkan oleh suatu tanaman.

#### 4.1.1.6. Uji Kompatibilitas pada Isolat Bakteri Non Patogen

Berdasarkan uji sinergi antar isolat yang diinokulasikan pada media NA terdapat 7 isolat bakteri terpilih serta bersifat non patogen non patogen. Uji kompatibel bertujuan untuk mengetahui isolat bakteri satu

dengan lainnya saling bersinergi atau antagonis disajikan pada Tabel 6 berikut ini.

**Tabel 3.** Hasil Uji Kompatibilitas

| Kode Isolat | B.3.3.3 | B.3.4.7 | B.4.3.6 | B.5.4.1 | B.6.2.10 | B.6.3.10 | B.9.1.1 |
|-------------|---------|---------|---------|---------|----------|----------|---------|
| B.3.3.3     | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.3.4.7     | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.4.3.6     | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.5.4.1     | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.6.2.10    | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.6.3.10    | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |
| B.9.1.1     | +       | +       | +       | +       | +        | +        | +       |

Keterangan : (+) : Sinergis; (-) : Antagonis

Konsorsium bakteri merupakan kumpulan bakteri yang bekerja sama membentuk suatu komunitas, untuk menghasilkan produk yang signifikan. Adanya kompatibilitas atau sinergisme dari dua bakteri atau lebih yang diinokulasikan merupakan faktor yang sangat penting supaya bakteri tersebut dapat bekerjasama dengan baik. Konsorsium merupakan campuran bakteri dalam bentuk komunitas yang mempunyai hubungan kooperatif dan mutualistik. Anggota komunitas yang mempunyai hubungan akan berasosiasi, sehingga lebih berhasil mendegradasi senyawa kimia dibandingkan isolat tunggal. Hubungan antar bakteri konsorsium dalam keadaan substrat yang mencukupi tidak akan saling mengganggu, tetapi saling bersinergi sehingga menghasilkan efisiensi perombakan yang lebih tinggi selama proses pengolahan. Penggunaan konsorsium bakteri cenderung memberikan hasil yang lebih baik dibandingkan penggunaan isolat tunggal, karena diharapkan kerja enzim dari tiap jenis bakteri dapat saling melengkapi untuk dapat bertahan hidup menggunakan sumber nutrisi yang tersedia dalam media pembawa tersebut.

Bakteri dengan genus yang sama dapat berinteraksi dan bersinergi, serta berbagi sumber nutrisi yang sama. Hal ini, menunjukkan perilaku kooperatif antar bakteri dalam suatu habitat dalam bentuk konsorsium. Suatu konsorsium akan menghasilkan produk yang dapat dimanfaatkan bersama, sehingga dapat saling mendukung pertumbuhan isolat tunggal dan lainnya.



Mekanisme sinergisme antar isolat dalam konsorsium masih belum diketahui dengan pasti, namun beberapa penelitian menduga disebabkan karena beberapa faktor antara lain salah satu anggota genus mampu menyediakan satu atau lebih faktor nutrisi yang tidak dapat disintesis oleh anggota genus yang lain, salah satu anggota genus yang tidak mampu mendegradasi bahan organik tertentu akan bergantung pada anggota genus yang mampu menyediakan hasil degradasi bahan organik tersebut, salah satu anggota genus melindungi anggota genus lain yang sensitif terhadap bahan organik tertentu dengan menurunkan konsentrasi bahan organik yang bersifat toksik dengan cara memproduksi faktor protektif yang spesifik maupun non spesifik.

4.1.2. Identifikasi Isolat Bakteri Terpilih

Identifikasi dilakukan pada 7 isolat bakteri terpilih yang dapat menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium secara makroskopis dan mikroskopis.

4.1.2.1. Identifikasi Isolat Bakteri secara Makroskopis

Hasil pengamatan identifikasi morfologi isolat bakteri secara makroskopis dilakukan secara kualitatif pada Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Identifikasi Isolat Bakteri secara Makroskopis

| Kode Isolat | Makroskopis |              |           |                   |                     |
|-------------|-------------|--------------|-----------|-------------------|---------------------|
|             | Bentuk      | Permukaan    | Tepi      | Warna             | Optikal             |
| B.3.1.3.3   | bulat       | timbul datar | utuh      | keputih-putihan   | tidak tembus cahaya |
| B.3.4.7     | bulat       | membukit     | bergerigi | kekuning-kuningan | tidak tembus cahaya |
| B.4.3.6     | bulat       | membukit     | bergerigi | keputih-putihan   | tidak tembus cahaya |
| B.5.4.1     | tak teratur | timbul datar | berbedah  | keputih-putihan   | tidak tembus cahaya |
| B.6.2.10    | bulat       | serupa kawah | bergerigi | kekuning-kuningan | tembus cahaya       |
| B.6.3.10    | serupa akar | rata         | berombak  | kelabu            | tidak tembus cahaya |
| B.9.1.1     | tak teratur | rata         | utuh      | keputih-putihan   | tidak tembus cahaya |



Hasil pengamatan morfologi koloni bakteri secara makroskopis menunjukkan sebagian besar koloni mempunyai bentuk yang bulat, hanya beberapa yang memiliki bentuk tidak teratur dan serupa akar. Permukaan koloni yang terlihat berbentuk timbul datar, menyerupai kawah, membukit, dan melengkung. Pada pengamatan tepian koloninya didapat empat bentuk tepian koloni yaitu utuh, bergerigi, berbedah, dan berombak. Sedangkan warna koloni hampir semua berwarna keputih-putihan hanya ada dua isolat yang berwarna kekuningan-kuningan yaitu isolat B.3.4.7 serta B.6.2.10 dan warna kelabu dengan kode isolat B.6.3.10. Optikal isolat bakteri menunjukkan sebagian besar tidak tembus cahaya hanya terdapat satu isolat bakteri yang memiliki optikal tembus cahaya dengan kode B.6.2.10 (Lampiran 9).

Menurut Dwijoseputro (2005), mengatakan bahwa koloni bakteri memiliki sifat-sifat khusus dalam media padat. Pada agar lempengan bentuk koloni dilukiskan sebagai titik-titik, bulat, berbenang, tak teratur, serupa akar dan kumparan. Permukaan koloni dapat rata, timbul datar, melengkung, mencembung, membukit, dan serupa kawah. Sedangkan tepian koloni dapat berbentuk utuh, berombak, berbelah, bergerigi, berbenang, dan keriting. Pada warna, koloni bakteri sebagian besar berwarna keputihan atau kekuningan, akan tetapi dapat juga berwarna lain seperti kemerahan, coklat, jingga, biru, hijau, dan ungu.

#### 4.1.2.2. Identifikasi Isolat Bakteri secara Mikroskopis

Hasil pengamatan identifikasi morfologi 7 isolat bakteri secara mikroskopis dilakukan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x disajikan pada Tabel 5.

**Tabel 5.** Hasil Identifikasi Isolat Bakteri secara Makroskopis

| Kode Isolat | Mikroskopis<br>Bentuk | Ukuran<br>( $\mu\text{m}$ ) | Motil     | Pewarnaan Gram |         |
|-------------|-----------------------|-----------------------------|-----------|----------------|---------|
|             |                       |                             |           | Positif        | Negatif |
| B.3.3.3     | <i>bacil</i> /batang  | $1,75 \times 10^{-3}$       | non motil | ✓              |         |
| B.3.4.7     | <i>bacil</i> /batang  | $1,54 \times 10^{-3}$       | non motil |                | ✓       |
| B.4.3.6     | <i>coccus</i> /bulat  | $0,91 \times 10^{-3}$       | non motil |                | ✓       |
| B.5.4.1     | <i>bacil</i> /batang  | $1,57 \times 10^{-3}$       | non motil |                | ✓       |
| B.6.2.10    | <i>coccus</i> /bulat  | $0,84 \times 10^{-3}$       | non motil |                | ✓       |
| B.6.3.10    | <i>coccus</i> /bulat  | $0,81 \times 10^{-3}$       | non motil |                | ✓       |
| B.9.1.1     | <i>bacil</i> /batang  | $2,55 \times 10^{-3}$       | non motil | ✓              |         |



Tabel 8 menunjukkan bahwa sebagian besar isolat merupakan bakteri gram negatif dan hanya 2 isolat merupakan gram positif yaitu kode isolat B.3.3.3 dan B.9.1.1. Menurut Pelczar dan Chan (1986), mekanisme pewarnaan gram berdasarkan pada struktur dan komposisi dinding sel bakteri. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel yang tipis dan komposisi lipid yang tinggi yaitu 11 - 22%. Sedangkan bakteri gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan hanya memiliki kandungan lipid sebesar 1 - 4%. Bakteri gram negatif memiliki kandungan lipid yang tinggi dan dinding sel yang tipis sehingga ketika mendapat perlakuan alkohol pada proses pewarnaan gram menyebabkan terekstraksinya lipid sehingga memperbesar daya rembes (permeabilitas) dinding sel. Hal ini menyebabkan warna Ungu Kristal-Yodium (UK-Y) terekstraksi sehingga organisme gram negatif kehilangan warna tersebut. Sedangkan warna ungu pada bakteri gram positif setelah mendapat perlakuan pewarnaan gram dikarenakan oleh rendahnya kandungan lipid pada dinding sel sehingga lipid menjadi terdehidrasi selama perlakuan alkohol. Ukuran pori-pori mengecil, permeabilitasnya berkurang dan kompleks UK-Y tidak dapat terekstraksi (Pelczar dan Chan, 1986). Bentuk sel isolat bakteri yang ditemukan sebagian besar memiliki bentuk *bacil* atau batang dan hanya terdapat 3 isolat yang memiliki bentuk *coccus* atau bulat pada kode B.4.3.6, B.6.2.10, dan B.6.3.10 (Lampiran 10). Menurut Dwijoseputro (2005), bakteri memiliki bentuk sel bulat (*coccus*), batang (*bacil*), dan lengkung (*spirillum*). Bentuk sel bakteri sangat penting dalam mencirikan morfologi suatu spesies.

#### 4.1.3. Potensi Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L.)

Pertumbuhan vegetatif tanaman jagung adalah pertumbuhan yang berhubungan dengan penambahan ukuran dan jumlah sel pada suatu tanaman. Pertumbuhan tanaman jagung meliputi fase perkecambahan yang dilanjutkan dengan fase pertumbuhan vegetatif yang mencakup perbesaran batang, daun dan akar tanaman. Pada pertumbuhan vegetatif beberapa parameter yang diamati sebagai berikut:

##### 4.1.3.1. Tinggi Tanaman

Pertumbuhan vegetatif tanaman jagung adalah pertumbuhan yang berhubungan dengan penambahan ukuran dan jumlah sel pada suatu tanaman. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diaplikasikan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter tinggi tanaman jagung. Rerata hasil perkembangan tinggi tanaman disajikan dalam Tabel 9.

**Tabel 6.** Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Tinggi Tanaman

| Perlakuan | Parameter Tanaman (cm) |             |              |              |        |             |              |             |
|-----------|------------------------|-------------|--------------|--------------|--------|-------------|--------------|-------------|
|           | 5 HST                  | 7 HST       | 11 HST       | 15 HST       | 19 HST | 23 HST      | 27 HST       | 30 HST      |
| F0-       | 5,93<br>abc            | 12,55<br>ab | 34,00<br>ab  | 53,13a       | 68,20a | 76,35a      | 81,75a       | 91,35a      |
| F0+       | 6,08<br>abc            | 12,50<br>ab | 33,88a       | 54,88<br>ab  | 76,00b | 93,55<br>bc | 101,00<br>bc | 109,05<br>b |
| F1        | 6,78<br>abcd           | 12,65<br>ab | 38,45<br>abc | 62,28c       | 81,40b | 100,85<br>c | 109,50<br>c  | 115,43<br>b |
| F2        | 5,75ab                 | 13,65b      | 38,03<br>abc | 59,08<br>abc | 79,55b | 97,73c      | 107,50<br>bc | 113,65<br>b |
| F3        | 8,43de                 | 16,98b      | 36,15<br>abc | 57,38<br>abc | 81,88b | 98,93c      | 106,50<br>bc | 113,70<br>b |
| F4        | 7,70cd                 | 16,33b      | 38,75<br>abc | 60,85<br>bc  | 82,90b | 100,80<br>c | 109,13<br>e  | 114,20<br>b |
| F5        | 7,50<br>bcd            | 14,80b      | 39,25<br>bc  | 63,05c       | 84,23b | 98,90c      | 107,75<br>bc | 114,33<br>b |
| F6        | 5,43a                  | 8,43a       | 34,00<br>ab  | 54,58<br>ab  | 79,45b | 91,63<br>bc | 99,45b       | 107,38<br>b |
| F7        | 9,50e                  | 16,45b      | 39,38c       | 62,38c       | 82,95b | 100,98<br>c | 109,98<br>c  | 116,33<br>b |
| F8        | 5,65ab                 | 12,28<br>ab | 37,88<br>abc | 58,50<br>abc | 79,53b | 86,65b      | 99,20b       | 107,38<br>b |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Uji Duncan pada taraf 5%). F0- (Formula negatif), F0+ (100% NPK rekomendasi), F1 (B.5.4.1 + 100% NPK rekomendasi), F2 (B.3.4.7 + 100% NPK rekomendasi), F3 (PG2T5 + 100% NPK rekomendasi), F4 (PG3TT2 + 100% NPK rekomendasi), F5 (PBSM2.1 + 100% NPK rekomendasi), F6 (Konsorsium + 100% NPK rekomendasi), F7 (Konsorsium + 75% NPK rekomendasi), F8 (Konsorsium + 50% NPK rekomendasi).

Hasil rerata tinggi tanaman jagung dari umur 5 HST hingga 30 HST pada perlakuan F7 (konsorsium + 75% NPK rekomendasi) paling tinggi apabila dibandingkan kontrol dan perlakuan lain. Pada perlakuan F7 pemberian kombinasi isolat bakteri serta penambahan pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi mempunyai rerata tinggi tanaman tertinggi sebesar 116,33 cm atau memiliki kenaikan tinggi tanaman sebesar 1,27% apabila dibandingkan dengan formula negatif dan 1,07% dibandingkan





formula positif. Masing-masing isolat tersebut memiliki kemampuan untuk menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium sehingga dapat menyediakan unsur hara secara cepat bagi tanaman. Unsur nitrogen (N) dan kalium (K) tersedia berguna untuk mempercepat pertumbuhan tanaman pada saat fase vegetatif secara keseluruhan, khususnya batang (Salisbury dan Ross, 1995). Unsur fosfor (P) tersedia penting untuk pertumbuhan sel sehingga dapat memperkuat batang (Elfiati, 2005; Lastianingsih, 2008). Penggabungan unsur nitrogen (N), fosfor (P), dan kalium (K) tersedia bagi tanaman yang dihasilkan bakteri penambat nitrogen, pelarut fosfat dan kalium dapat meningkatkan kandungan klorofil dan kloroplas pada daun dan proses fotosintesis juga meningkat akibatnya pertumbuhan tanaman lebih baik. Meningkatnya fotosintesis maka akan meningkatkan pertumbuhan dan perpanjangan sel, sehingga pertumbuhan tinggi tanaman yang terbentuk semakin tinggi.

#### 4.1.3.2. Jumlah Daun

Daun secara umum merupakan organ produsen fotosintesis utama, pengamatan daun dapat didasarkan atas fungsinya sebagai penerima cahaya dan alat fotosintesis dimana jika pemerataan cahaya yang diterima oleh daun maka penyerapan hara menjadi lebih optimal. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diaplikasikan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap parameter jumlah daun tanaman jagung. Parameter pertumbuhan vegetatif kedua yang diamati ialah jumlah daun. Pengamatan jumlah daun sangat diperlukan karena selain sebagai indikator pertumbuhan parameter jumlah daun juga diperlukan sebagai data penunjang untuk menjelaskan proses pertumbuhan yang terjadi selama 30 HST. Rerata hasil perhitungan jumlah daun disajikan dalam Tabel 10.

**Tabel 7.** Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Jumlah Daun

| Perlakuan | Parameter Tanaman (helai) |        |        |        |        |             |        |        |
|-----------|---------------------------|--------|--------|--------|--------|-------------|--------|--------|
|           | 5 HST                     | 7 HST  | 11 HST | 15 HST | 19 HST | 23 HST      | 27 HST | 30 HST |
| F0-       | 1,00a                     | 2,75b  | 3,25a  | 4,25a  | 5,25a  | 5,75a       | 6,00a  | 6,75a  |
| F0+       | 1,00a                     | 1,75a  | 3,00a  | 4,50ab | 5,75ab | 6,75bc      | 8,00bc | 9,00bc |
| F1        | 1,50<br>abc               | 2,50b  | 4,00b  | 4,75ab | 6,00bc | 7,25<br>bcd | 8,00bc | 9,00bc |
| F2        | 1,75bc                    | 2,75b  | 4,00b  | 5,25b  | 6,25bc | 7,50cd      | 8,50c  | 9,50c  |
| F3        | 1,75bc                    | 2,75b  | 4,00b  | 5,00ab | 6,25bc | 7,25<br>bcd | 8,00bc | 8,75bc |
| F4        | 2,00c                     | 3,00b  | 4,00b  | 5,25b  | 6,25bc | 7,25<br>bcd | 8,25c  | 9,25bc |
| F5        | 1,75bc                    | 2,75b  | 3,75b  | 5,00ab | 6,25bc | 7,25<br>bcd | 8,25c  | 9,25bc |
| F6        | 1,25ab                    | 2,25ab | 3,75b  | 5,25b  | 6,50bc | 6,50b       | 8,25c  | 9,25bc |
| F7        | 2,00c                     | 3,00b  | 4,00b  | 5,25b  | 6,75c  | 7,75d       | 8,50c  | 9,50c  |
| F8        | 1,50<br>abc               | 2,25ab | 4,00b  | 5,00ab | 6,00bc | 7,00<br>bcd | 7,50b  | 8,50b  |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Uji Duncan pada taraf 5%). F0- (Formula negatif), F0+ (100% NPK rekomendasi), F1 (B.5.4.1 + 100% NPK rekomendasi), F2 (B.3.4.7 + 100% NPK rekomendasi), F3 (PG2T5 + 100% NPK rekomendasi), F4 (PG3TT2 + 100% NPK rekomendasi), F5 (PBSM2.1 + 100% NPK rekomendasi), F6 (Konsorsium + 100% NPK rekomendasi), F7 (Konsorsium + 75% NPK rekomendasi), F8 (Konsorsium + 50% NPK rekomendasi).

Hasil analisis rerata jumlah daun tanaman jagung pada setiap perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan. Namun, perlakuan F7 merupakan perlakuan yang menghasilkan peningkatan rerata jumlah daun yang lebih tinggi pada saat berumur 30 HST sebesar 9,50 helai dibandingkan perlakuan lain perlakuan F7 memiliki kenaikan jumlah daun sebesar 1,41% apabila dibandingkan dengan formula negatif dan 1,06% dibandingkan dengan formula positif. Hal ini, disebabkan karena pemberian campuran inokulasi bakteri yang memiliki kemampuan menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium dapat mempercepat laju pertumbuhan daun dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi bakteri dan perlakuan yang lainnya.

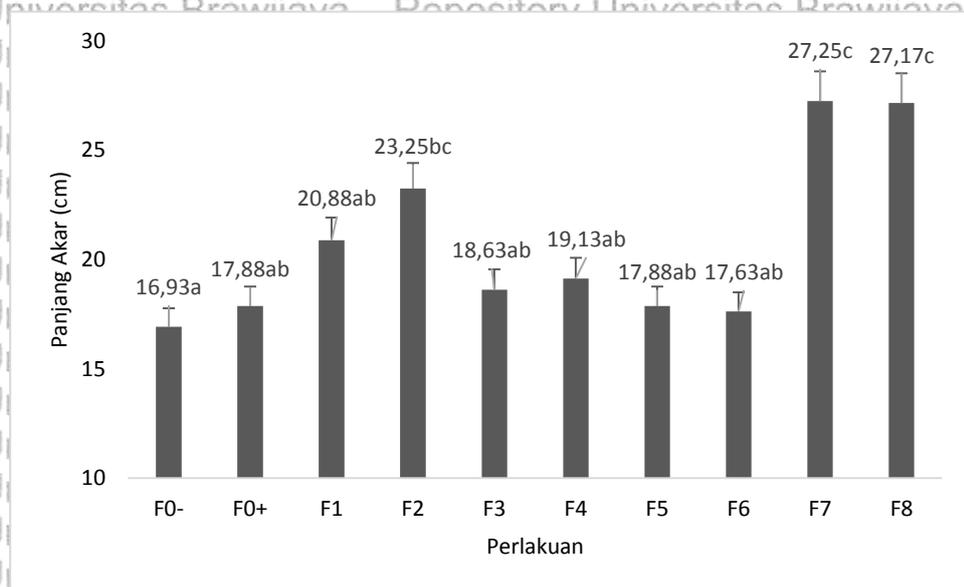
#### 4.1.3.3. Panjang Akar

Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan yang diaplikasikan memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap





parameter panjang akar tanaman jagung. Rerata hasil panjang akar tiap perlakuan disajikan pada Gambar 6.



Keterangan: F0- (Formula negatif), F0+ (100% NPK rekomendasi), F1 (B.5.4.1 + 100% NPK rekomendasi), F2 (B.3.4.7 + 100% NPK rekomendasi), F3 (PG2T5 + 100% NPK rekomendasi), F4 (PG3TT2 + 100% NPK rekomendasi), F5 (PB5M2.1 + 100% NPK rekomendasi), F6 (Konsorsium + 100% NPK rekomendasi), F7 (Konsorsium + 75% NPK rekomendasi), F8 (Konsorsium + 50% NPK rekomendasi).

**Gambar 5.** Hasil Rerata Panjang Akar Tanaman Jagung

Hasil rerata perlakuan formula negatif maupun positif berturut-turut hanya sebesar 16,93 cm dan 17,88 cm apabila dibandingkan dengan perlakuan pemberian inokulasi bakteri, perlakuan kontrol memiliki panjang akar yang lebih rendah. Hasil rerata tertinggi didapatkan pada perlakuan F7 yaitu 27,25 cm atau memiliki kenaikan sebesar 1,64% dibandingkan dengan perlakuan formula negatif dan 1,56% dibandingkan perlakuan formula positif. Hal ini, menunjukkan tanaman yang diberi formulasi sebanyak 5 jenis bakteri dan penambahan dosis pupuk anorganik masing-masing 75% dari rekomendasi memiliki nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan panjang akar. Didukung oleh pendapat Setyamidjaja (1986) bahwa fungsi unsur N adalah untuk memacu pertumbuhan vegetatif tanaman. Apabila kekurangan unsur N tanaman akan memperlihatkan pertumbuhan yang kerdil. Unsur hara N juga berguna untuk pembentukan klorofil dan kloroplas pada daun yang nantinya berguna untuk proses fotosintesis. Selain itu, peningkatan dan pertambahan panjang akar pada



tanaman yang diberikan konsorsium bakteri disebabkan oleh penyerapan unsur nitrogen yang baik oleh akar tanaman jagung. Menurut Agustina (2004), mengatakan bahwa peningkatan pertumbuhan tanaman diakibatkan oleh penyerapan unsur nitrogen yang lebih tinggi.

#### 4.1.3.4. Berat Basah Tanaman dan Akar

Berat basah tanaman menunjukkan total berat tanaman yang diperoleh dari aktivitas metabolisme selama pertumbuhan yaitu terdiri dari total fotosintat. Berat basah akar menunjukkan banyaknya akar yang dihasilkan oleh tanaman selama pertumbuhan untuk menyerap unsur hara dan air. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa memberikan pengaruh beda nyata terhadap parameter berat basah tanaman bagian atas dan akar. Rerata hasil berat basah tanaman dan akar tiap perlakuan disajikan pada

Tabel 11.

**Tabel 8. Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Berat Basah Tanaman dan Akar**

| Perlakuan | Parameter Pengamatan (g/pot) |         |
|-----------|------------------------------|---------|
|           | BB Tanaman                   | BB Akar |
| F0        | 16,94a                       | 2,40a   |
| F0+       | 40,62bc                      | 9,86b   |
| F1        | 48,69cd                      | 10,94b  |
| F2        | 52,58d                       | 11,05b  |
| F3        | 47,10c                       | 10,45b  |
| F4        | 52,51d                       | 10,29b  |
| F5        | 47,95cd                      | 8,31b   |
| F6        | 43,62c                       | 10,92b  |
| F7        | 53,62d                       | 11,35b  |
| F8        | 33,03b                       | 10,79b  |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Uji Duncan pada taraf 5%). F0- (Formula negatif), F0+ (100% NPK rekomendasi), F1 (B.5.4.1 + 100% NPK rekomendasi), F2 (B.3.4.7 + 100% NPK rekomendasi), F3 (PG2T5 + 100% NPK rekomendasi), F4 (PG3TT2 + 100% NPK rekomendasi), F5 (PBSM2.1 + 100% NPK rekomendasi), F6 (Konsorsium + 100% NPK rekomendasi), F7 (Konsorsium + 75% NPK rekomendasi), F8 (Konsorsium + 50% NPK rekomendasi), BB (Berat Basah).

Hasil penelitian parameter berat basah tanaman pada perlakuan F7 memberikan hasil paling tinggi. Peningkatan berat basah tanaman perlakuan tersebut sebesar 53,62 g/pot atau memiliki kenaikan sebesar 3,17% dibandingkan dengan formula negatif dan 1,32% dibandingkan dengan formula positif. Sedangkan hasil berat basah akar pada perlakuan



yang sama yaitu F7 memiliki berat yang lebih tinggi sebesar 11,35 g/pot atau memiliki kenaikan sebesar 4,69% dibandingkan dengan formula negatif dan 1,15% dibandingkan dengan formula positif. Hal ini menunjukkan bahwa kombinasi antara 5 isolat bakteri potensial serta penambahan dosis pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi dapat meningkatkan berat basah tanaman jagung dibandingkan dengan perlakuan tanpa inokulasi dan perlakuan yang hanya menggunakan satu jenis isolat bakteri. Penggunaan satu jenis bakteri untuk menghasilkan satu unsur hara yang diperlukan tanaman kurang memenuhi dalam meningkatkan berat basah dibandingkan jika ketiga unsur hara yaitu N, P, dan K tersedia. Unsur nitrogen (N) dan kalium (K) berperan untuk pertumbuhan terutama peningkatan bobot dan membantu tanaman tumbuh secara baik pada saat fase vegetatif (Mukti, 2009), sedangkan unsur fosfor (P) digunakan tanaman untuk mengembangkan sel serta akar sehingga apabila keduanya tidak tersedia cukup untuk tanaman akan mengganggu peningkatan berat basah (Suwandi, 2009). Fosfor dan nitrogen tersedia yang dihasilkan oleh campuran bakteri pelarut fosfat dan bakteri penambat nitrogen digunakan untuk meningkatkan pembentukan sel-sel baru pada jaringan meristematik tanaman, sehingga membantu proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Tania *et al.*, 2012) yang akhirnya terjadi peningkatan berat basah tanaman.

#### 4.1.3.5. Berat Kering Tanaman dan Akar

Pengamatan berat kering tanaman bagian atas dan akar diperoleh dengan cara menghilangkan kadar air dalam jaringan menggunakan oven pada suhu 60 - 80°C sehingga jaringan tanaman maupun akar tidak rusak oleh suhu. Hasil sidik ragam menunjukkan bahwa memberikan pengaruh yang tidak berbeda nyata terhadap parameter berat kering tanaman bagian atas dan akar. Pertumbuhan akar berfungsi menyerap air dan unsur hara serta organ pernafasan dalam tanah. Rerata hasil berat kering tanaman dan akar tiap perlakuan disajikan pada Tabel 12.



**Tabel 9.** Pengaruh Perlakuan terhadap Rerata Berat Kering Tanaman dan Akar

| Perlakuan | Parameter Pengamatan (g/pot) |         |
|-----------|------------------------------|---------|
|           | BK Tanaman                   | BK Akar |
| F0-       | 8,50a                        | 0,53a   |
| F0+       | 10,01ab                      | 1,49b   |
| F1        | 10,91ab                      | 1,53b   |
| F2        | 11,39ab                      | 1,63b   |
| F3        | 11,65ab                      | 1,54b   |
| F4        | 11,43ab                      | 1,68b   |
| F5        | 11,03ab                      | 1,33b   |
| F6        | 10,23ab                      | 1,47b   |
| F7        | 12,46b                       | 1,72b   |
| F8        | 10,87ab                      | 1,48b   |

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama pada kolom dan baris yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata (Uji Duncan pada taraf 5%). F0- (Formula negatif), F0+ (100% NPK rekomendasi), F1 (B.5.4.1 + 100% NPK rekomendasi), F2 (B.3.4.7 + 100% NPK rekomendasi), F3 (PG2T5 + 100% NPK rekomendasi), F4 (PG3TT2 + 100% NPK rekomendasi), F5 (PB5M2.1 + 100% NPK rekomendasi), F6 (Konsorsium + 100% NPK rekomendasi), F7 (Konsorsium + 75% NPK rekomendasi), F8 (Konsorsium + 50% NPK rekomendasi), BK (Berat Kering).

Hasil penelitian parameter berat kering tanaman dan akar dapat diketahui bahwa antar perlakuan memiliki berat yang tidak terlalu signifikan. Namun perlakuan F7 memiliki berat yang paling tinggi sebesar 12,46 g/pot atau mempunyai kenaikan sebesar 1,47% dibandingkan dengan formula negatif dan 1,24% dibandingkan dengan formula positif. Sedangkan untuk berat kering akar perlakuan F7 juga memiliki berat yang lebih tinggi sebesar 1,72 g/pot atau memiliki kenaikan sebesar 3,25% dibandingkan dengan formula negatif dan 1,15% dibandingkan dengan formula positif. Pada perlakuan F7 bahwa pemberian inokulasi kelima jenis bakteri yang memiliki kemampuan dalam penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan kalium serta penambahan dosis pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi. Berat kering tanaman mencerminkan pertumbuhan tanaman dan banyaknya unsur hara yang terserap per satuan berat biomassa yang dihasilkan. Semakin tinggi nilai berat kering tanaman yang dihasilkan, maka pertumbuhan tanaman semakin baik dan unsur hara yang terserap semakin banyak. Ketersediaan unsur N dalam tanah menjadi faktor pembatas pertumbuhan tanaman, sehingga meskipun kondisi unsur



hara lainnya, seperti P dan K sudah cukup tersedia dalam tanah, hal tersebut masih memberikan kemungkinan berat kering suatu tanaman dapat menurun. Adanya penambahan inokulan bakteri, maka kehadiran unsur hara di dalam tanah dapat meningkat sehingga mampu memacu pertumbuhan tanaman. Parameter di atas didapatkan bahwa perlakuan inokulasi bakteri penambat nitrogen, pelarut fosfat dan kalium serta penambahan pupuk anorganik dengan dosis tertentu memberikan pengaruh tidak nyata dalam pertumbuhan berat kering tanaman dan akar.

## 4.2. Pembahasan

### 4.1.4. Pengaruh Isolat Bakteri Potensial Terhadap Pertumbuhan Jagung (*Zea mays* L.)

Secara umum berdasarkan parameter tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, berat basah, dan berat kering tanaman serta akar menunjukkan pertumbuhan dengan perlakuan F7 lebih tinggi dan optimal dibandingkan dengan kontrol dan perlakuan yang lain. Hasil analisis keragaman menunjukkan bahwa pemberian inokulasi bakteri berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar dan berat basah tanaman serta akar, tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap berat kering tanaman serta akar tiap perlakuan. Hal ini, dikarenakan pada perlakuan F7 pemberian komposisi konsorsium 5 jenis bakteri dengan masing-masing memiliki kemampuan menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium. Sehingga parameter pada perlakuan tersebut lebih unggul dibandingkan perlakuan yang lain. Beberapa bakteri yang digunakan dalam inokulasi pada tanaman jagung yaitu *Klebsiella oxytoca*, *Serratia ficaria*, *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, dan *Pseudomonas asplenii*. Kelima jenis bakteri tersebut memiliki kemampuan yang berbeda-beda (Lampiran 6).

Kelompok bakteri *Pseudomonas* sp., *Serratia* dan *Bacillus* merupakan bakteri yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat. *Serratia* dan *Pseudomonas* sp. merupakan kelompok bakteri yang mampu melarutkan P dengan cara memproduksi asam organik (Rodriguez dan Fraga 1999; Archana 2007). Strain dari *Pseudomonas* sp. dapat mencegah



tanaman dari patogen fungi yang berasal dari tanah dan potensial sebagai agen biokontrol untuk digunakan secara komersial di rumah kaca maupun di lapangan (Arshad dan Frankenberger, 1993). Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan Viruel *et al.* (2014), inokulan *Pseudomonas tolaasii* terbukti dapat meningkatkan pertumbuhan, hasil tanaman, dan nutrisi P. Bakteri pelarut fosfat juga dapat berperan sebagai biokontrol yang dapat meningkatkan kesehatan akar dan pertumbuhan tanaman melalui proteksinya terhadap penyakit. Bakteri pelarut fosfat memiliki fungsi dalam meningkatkan ketersediaan unsur P bagi tanaman hingga 50%. Peningkatan ketersediaan unsur P ini disebabkan bakteri pelarut fosfat mampu mengeluarkan asam-asam organik seperti asam sitrat, glutamat, suksinat dan glioksalat yang dapat mengkhelat Al, Fe, Ca, dan Mg sehingga fosfor yang terikat sehingga ion  $H_2PO_4$  menjadi bebas dari ikatannya dan tersedia bagi tanaman untuk diserap menjadi larut dan tersedia.

Selain itu, kelompok *Bacillus* dan *Pseudomonas sp.* juga memiliki kemampuan dalam menambat nitrogen bebas di udara. Hal ini, sesuai menurut James dan Olivares (1997) bahwa bakteri fiksasi  $N_2$  yang hidup bebas pada daerah perakaran dan jaringan tanaman seperti *Pseudomonas sp.*, *Bacillus*, *Azotobacter*, dan *Azospirillum* telah terbukti mampu melakukan fiksasi nitrogen. Sedangkan kelompok *Serratia* selain memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat juga dapat melarutkan kalium. Hal ini didukung menurut Rodriguez dan Fraga (1999); Archana (2007) bahwa kelompok *Serratia* merupakan kelompok bakteri yang mampu melarutkan unsur P dan K dengan cara memproduksi asam organik.

Hasil penelitian menunjukkan interaksi atau pengaruh perlakuan dengan pemberian konsorsia inokulan bakteri memberikan hasil optimal terhadap pertumbuhan tanaman jagung apabila dibandingkan pada perlakuan kontrol maupun pemberian hanya 1 jenis inokulan bakteri dalam tiap perlakuan. Tingginya tingkat pertumbuhan yang dihasilkan dari interaksi perlakuan ini, dikarenakan kombinasi perlakuan yang tepat yaitu pemberian 5 jenis isolat bakteri dapat saling bersinergi dan menyuplai



ketersediaan unsur hara dalam jumlah yang cukup dan seimbang bagi pertumbuhan tanaman jagung. Hal ini, sejalan dengan pendapat Djafar *et al.* (1990), bahwa pertumbuhan dan produksi tanaman merupakan fungsi dari faktor lingkungan, yaitu salah satu faktor lingkungan yang sangat berperan penting terhadap pertumbuhan tanaman adalah ketersediaan unsur hara dalam jumlah cukup dan seimbang di dalam tanah dan efisien dalam penyerapan dan penggunaan hara akan sangat mendukung keberhasilan dalam sistem budidaya tanaman.

Pemberian dosis pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi juga ditambahkan pada perlakuan F7. Hal ini, dikarenakan tanaman jagung telah diberikan inokulasi bakteri potensial yang memiliki kemampuan menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium belum sepenuhnya menghilangkan aplikasi pemberian pupuk anorganik. Namun, dosis yang diberikan hanya 75% dari rekomendasi bertujuan unsur hara yang dibutuhkan pada saat fase vegetatif tanaman jagung masih dapat tercukupi.

Penelitian sebelumnya Jumini *et al.* (2011) menjelaskan bahwa pemberian pupuk kombinasi N, dan K dengan dosis yang lebih rendah berbeda nyata dengan perlakuan pemberian kombinasi pupuk N, P dan K dosis yang lebih tinggi terhadap pertumbuhan dan hasil produksi tanaman jagung manis. Ketersediaan unsur hara yang dapat diserap oleh tanaman merupakan salah satu faktor yang dapat mempengaruhi tingkat produksi suatu tanaman dan apabila unsur hara kurang dari kebutuhan yang optimal maka pertumbuhan tidak optimal (Jumini *et al.*, 2011). Apabila pemberian dosis pupuk anorganik yang berlebihan akan bersifat toksik pada tanaman sehingga dapat mengganggu tahap pertumbuhan vegetatif tanaman sebaliknya apabila pupuk anorganik dalam pemberian dosis terlalu rendah pada saat pengaplikasian pada tanaman akan menyebabkan tanaman jagung kerdil.

Pada tahap vegetatif tanaman secara aktif menyerap unsur hara seperti N. Tanaman menyerap N dalam bentuk ion nitrat ( $\text{NO}_3^-$ ) dan ion amonium ( $\text{HN}_4^+$ ), baik yang telah tersedia di tanah maupun dari pupuk. Nitrogen yang diserap kemudian diubah dalam bentuk asam nukleat dan

asam amino untuk biosintesis protein dan pertumbuhan baik vegetatif maupun generatif (Larcher, 1995).

### 4.3. Pembahasan Umum

Hasil penelitian menunjukkan bahwa setiap perlakuan berpengaruh nyata terhadap parameter rerata tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, dan berat basah tanaman serta akar. Sementara pada parameter berat kering tanaman dan akar tidak berpengaruh nyata terhadap perlakuan. Pada aplikasi konsorsium kelima jenis bakteri potensial ditambah dengan pemberian dosis pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi memiliki rerata paling tinggi pada parameter tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, berat basah, dan berat kering.

Berdasarkan pernyataan tersebut, aplikasi konsorsium kelima jenis bakteri ditambah dengan pemberian pupuk anorganik dengan dosis 75% dari rekomendasi berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman jagung dibandingkan dengan perlakuan lain. Hal ini, dikarenakan kelima jenis bakteri merupakan kelompok *Pseudomonas* sp., *Serratia*, *Bacillus*, dan *Klebsiella* yang memiliki kemampuan potensial dalam menambat nitrogen, melarutkan fosfat dan kalium. Oleh karena itu, kebutuhan unsur hara pada tanaman jagung dapat tercukupi dengan adanya inokulasi dari bakteri tersebut serta penambahan dosis pupuk anorganik sebesar 75% dari rekomendasi menghasilkan pertumbuhan tanaman jagung pada fase vegetatif lebih tinggi apabila dibandingkan perlakuan lain. Fosfor dan nitrogen tersedia yang dihasilkan oleh kombinasi bakteri pelarut fosfat dan bakteri penambat nitrogen digunakan untuk meningkatkan pembentukan sel-sel baru pada jaringan meristematik tanaman, sehingga membantu proses pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Tania *et al.*, 2012).

Sedangkan bakteri pelarut kalium yaitu dengan cara memproduksi asam organik sama halnya dengan bakteri pelarut fosfat. Bakteri pelarut fosfat memiliki fungsi dalam meningkatkan ketersediaan unsur P bagi tanaman hingga 50%.

Peningkatan ketersediaan unsur P ini disebabkan karena bakteri pelarut fosfat mampu mengeluarkan asam-asam organik seperti asam sitrat, glutamate, suksinat dan glioksalat yang dapat mengkelat Al, Fe, Ca, dan Mg sehingga fosfor yang terikat sehingga ion  $H_2PO_4$  menjadi bebas dari ikatannya dan tersedia bagi tanaman untuk diserap menjadi larut dan tersedia.



## V. KESIMPULAN DAN SARAN

### 5.1. Kesimpulan

1. Perlakuan inokulasi bakteri potensial ditambah pemberian dosis pupuk yang berbeda menunjukkan pengaruh beda nyata terhadap parameter yang diamati jika dibandingkan dengan formula negatif dan positif. Namun pengaruh tidak berbeda nyata hanya terhadap berat kering tanaman serta akar.
2. Perlakuan F7 dengan rincian perlakuan konsorsium 5 jenis bakteri potensial yaitu spesies *Klebsiella oxytoca*, *Serratia ficaria*, *Pseudomonas tolaasii*, *Bacillus pumilus*, dan *Pseudomonas asplenii* ditambah dengan dosis 75% pupuk urea, SP-36 dan KCl dari rekomendasi merupakan perlakuan yang menghasilkan laju parameter pertumbuhan tanaman jagung paling tinggi dan baik dibandingkan kontrol dan perlakuan lain.
3. Kelima jenis bakteri potensial mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung pada tahap vegetatif tanaman jagung. Ditemukan ada 4 kelompok genus yaitu *Pseudomonas* sp., *Serratia*, *Bacillus*, dan *Klebsiella*.

### 5.2. Saran

Penelitian selanjutnya yang serupa, perlu dilakukan analisis tanah awal dan akhir untuk mengetahui peningkatan unsur hara dalam tanah serta dilakukan uji lanjutan berupa hormon tumbuh pada setiap isolat bakteri potensial agar lebih menunjang dalam pengaplikasian pada tanaman budidaya tidak hanya pertumbuhan tetapi dalam segi produktivitas.