

DISERTASI

**POTENSI BAKTERI PEMFIKSASI NITROGEN NON
SIMBIOTIK SEBAGAI AGEN BIOFERTILIZER DAN
BIOSTIMULAN PADA PADI SAWAH**

Disusun dan diajukan oleh

**NINING HAERANI
P013171023**



**PROGRAM STUDI ILMU PERTANIAN
SEKOLAH PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2021**

LEMBAR PENGESAHAN DISERTASI

**POTENSI BAKTERI PEMFIKSASI NITROGEN NON SIMBIOTIK
SEBAGAI AGEN BIOFERTILIZER DAN BIOSTIMULAN PADA
PADI SAWAH**

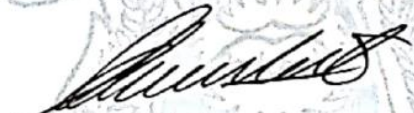
Disusun dan diajukan oleh

NINING HAERANI

P013171023


Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka
Penyelesaian Studi Program Doktor Program Studi Ilmu Pertanian
Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin
pada tanggal 28 Oktober 2021
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

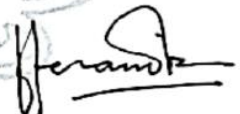
Menyetujui,
Promotor


Prof. Dr. Ir. Elkawakib Syam'un, M.P.
NIP. 195603181985031001

Co. Promotor


Co. Promotor



Dr. Ir. Burhanuddin Rasyid, M.Sc.
NIP 196407211990021001


Dr. Ir. Feranita, M.P.
NIP 195912201986012001

Ketua Program Studi
Ilmu Pertanian

Dekan Sekolah Pascasarjana
Universitas Hasanuddin


Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, M.S.
NIP 196306061988031004


Prof. Dr. Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.
NIP 196703081990031001

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Nining Haerani
NIM : P013171023
Program Studi : Ilmu Pertanian
Jenjang : S3

Menyatakan dengan ini bahwa karya ilmiah saya yang berjudul:

Potensi Bakteri Pemfiksasi Nitrogen Non Simbiotik Sebagai Agen Biofertilizer dan Biostimulan pada Padi Sawah

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilalihan tulisan orang lain, bahwa disertasi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, Oktober 2020

Yang menyatakan



Nining Haerani

PROMOTOR, KOPROMOTOR DAN PENGUJI

- PROMOTOR : Prof. Dr. Ir. Elkawakib Syam'un, M.P.
- KOPROMOTOR : Dr. Ir. Burhanuddin Rasyid, M.Sc.
- KOPROMOTOR : Dr. Ir. Feranita, M.P.
- PENGUJI : Prof. Dr. Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc.
- PENGUJI : Dr. Ir. Amir Yassi, M.Si.
- PENGUJI : Dr. Ir. Amirullah Dachlan., MP
- PENGUJI : Dr. Ir. Muh. Jayadi, M.P.
- PENGUJI EKSTERNAL : Prof. (Riset) Dr. Ir. H. Sahardi, M.S.

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	iii
PRAKATA	vi
	x
ABSTRAK	1
BAB I	
PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	7
C. Tujuan Penelitian	8
D. Manfaat Penelitian	8
E. Kebaruan Penelitian	9
F. Ruang Lingkup Penelitian	9
G. Kerangka Pikir	11
BAB II	13
TINJAUAN PUSTAKA	13
A. Padi Sawah	13
B. Nitrogen	18
C. Peranan Bakteri Fiksasi Nitrogen	21
D. Hipotesis	28
BAB III	29
METODE PENELITIAN	29
A. Penelitian Tahap I	29
Isolasi, Seleksi dan Karakterisasi Bakteri Fiksasi Nitrogen	29
Waktu dan Tempat	29
Bahan dan Alat	30
Metode Penelitian	31
Tahapan Pelaksanaan Penelitian	32
B. Penelitian Tahap II	36
Analisis Kemampuan Rizobakteri sebagai Pemfiksasi Nitrogen dan Penghasil Fitohormon	36
Waktu dan Tempat	36
Bahan dan Alat	36
Metode Penelitian	38
Tahapan Pelaksanaan Penelitian	40
C. Penelitian Tahap III	40
Analisis Pemacuan Pertumbuhan Tanaman secara In Vitro dan Fase Pertumbuhan Vegetatif	44
Waktu dan Tempat	44
Bahan dan Alat	44
Metode Penelitian	44

Tahapan Pelaksanaan Penelitian	46
D. Penelitian Tahap IV	49
Analisis Aktivitas Enzim Nitrogenase dengan metode analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA)	49
Waktu dan Tempat	49
Bahan dan Alat	49
Metode Penelitian	50
Tahapan Pelaksanaan Penelitian	50
E. Penelitian Tahap V	52
Analisis Identifikasi Secara Molekuler Berdasarkan Uji Sekuensing gen 16S rRNA	52
Waktu dan Tempat	52
Bahan dan Alat	52
Metode Penelitian	53
Tahapan Pelaksanaan Penelitian	54
F. Penelitian VI	55
Analisis Kemampuan Rizobakteri dalam Meningkatkan Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Padi Secara In Planta, dan Efisiensi Serapan Nitrogen	55
Waktu dan Tempat	55
Bahan dan Alat	56
Metode Penelitian	57
Tahapan Pelaksanaan Penelitian	57
BAB IV	63
HASIL DAN PEMBAHASAN	63
A. Hasil	63
Penelitian Tahap I	63
Isolasi, identifikasi dan Karakterisasi Rizobakteri Fiksasi Nitrogen	
Penelitian Tahap II	69
Analisis Kemampuan Rizobakteri memfiksasi Nitrogen dan menghasilkan Hormon	
Penelitian Tahap III	75
Analisis Pengaruh Isolat Rhizobakteri pada Pertumbuhan Padi Secara In Vitro dan Fase Pertumbuhan Vegetatif	
Penelitian Tahap IV	82
Analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA)	
Penelitian Tahap V	83
Analisis Identifikasi Secara Molekuler Berdasarkan Uji Sekuensing gen 16S rRNA	
Penelitian Tahap VI	87
Analisis Kemampuan Rizobakteri dalam Meningkatkan Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Padi Secara In Planta, dan Efisiensi Serapan Nitrogen	
B. Pembahasan	106

Penelitian Tahap I	106
Penelitian Tahap II	112
Penelitian Tahap III	117
Penelitian Tahap IV	124
Penelitian Tahap V	128
Penelitian Tahap VI	134
BAB V	145
KESIMPULAN DAN SARAN	145
A. Kesimpulan	145
B. Saran	146
DAFTAR PUSTAKA	147
LAMPIRAN	160

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1	Karakterisasi morfologi isolat bakteri fiksasi nitrogen asal rizosfer padi pada enam kabupaten di Sulawesi Selatan	65
2	Hasil uji reaksi Gram isolat rizobakteri fiksasi nitrogen	67
3	Hasil uji katalase isolat rizobakteri fiksasi nitrogen	68
4	Isolat terpilih berdasarkan tiga kategori pengujian	74
5	Rata-rata panjang tunas (cm) padi dengan perlakuan berbagai isolat rizobakteri pada uji <i>in vitro</i>	76
6	Rata-rata panjang akar (cm) padi dengan perlakuan berbagai isolat rizobakteri pada uji <i>in vitro</i>	77
7	Rata-rata tinggi tanaman (cm) padi dengan perlakuan berbagai isolat rizobakteri pada fase vegetatif 30 HST	79
8	Rata-rata jumlah daun (cm) padi dengan perlakuan berbagai isolat rizobakteri pada fase vegetatif 30 HST	80
9	Rata-rata berat basah (g) padi dengan perlakuan berbagai isolat rizobakteri pada fase vegetatif 30 HST	81
10	Hasil analisis kuantitatif aktivitas nitrogenase isolat bakteri	82
11	Rata-rata tinggi tanaman (cm) padi umur 15 HST yang dipengaruhi oleh faktor tunggal yaitu pada perlakuan dosis formula biakan bakteri	88
12	Rata-rata jumlah anakan (batang) padi umur 15 HST yang dipengaruhi interaksi 2 faktor yaitu pada	89

	perlakuan isolat bakteri dan dosis formula biakan bakteri	
13	Rata-rata jumlah anakan produktif (batang) yang dipengaruhi interaksi 2 faktor yaitu pada perlakuan isolat bakteri dan bahan carrier	90
14	Rata-rata kandungan klorofil (unit) yang dipengaruhi oleh faktor tunggal yaitu pada perlakuan bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	92
15	Rata-rata panjang malai (cm) yang dipengaruhi oleh faktor tunggal yaitu pada perlakuan dosis formula biakan bakteri	93
16	Rata-rata jumlah gabah hampa per malai (g) yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	95
17	Rata-rata bobot gabah per rumpun (g) yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	97
18	Rata-rata berat basah tanaman padi (g) yang dipengaruhi oleh interaksi 2 perlakuan yaitu isolat bakteri dan dosis formula biakan bakteri	99
19	Rata-rata berat basah tanaman padi (g) yang dipengaruhi oleh interaksi 2 perlakuan yaitu bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	99
20	Rata-rata berat kering tanaman padi (g) yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	100
21	Rata-rata kandungan nitrogen tanah (%) yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat	101

	bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	
22	Rata-rata kandungan nitrogen jaringan (%) tanaman yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	102
23	Rata-rata serapan nitrogen oleh tanaman (%) yang dipengaruhi oleh interaksi 3 perlakuan yaitu isolat bakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri.	103

No.		Halaman
------------	--	----------------

Lampiran

1	Karakterisasi morfologi dan fisiologi isolat bakteri fiksasi nitrogen asal rizosfer padi pada enam kabupaten di Sulawesi Selatan	157
2	Sidik ragam panjang tunas dengan perlakuan inokulasi rizobakteri pada uji <i>in vitro</i>	159
3	Sidik ragam panjang akar dengan perlakuan inokulasi rizobakteri pada uji <i>in vitro</i>	159
4	Sidik ragam tinggi tanaman padi pada perlakuan inokulasi rizobakteri pada fase vegetatif	160
5	Sidik ragam jumlah daun pada perlakuan inokulasi rizobakteri pada fase vegetatif	160
6	Sidik ragam berat basah pada perlakuan inokulasi rizobakteri pada fase vegetatif	161
7	Sidik ragam tinggi tanaman pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	161

8	Sidik ragam jumlah anakan pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	162
9	Sidik ragam jumlah anakan produktif pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	163
10	Sidik ragam umur berbunga pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	164
11	Sidik ragam kandungan klorofil pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	165
12	Sidik ragam panjang malai pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	166
13	Sidik ragam panjang malai pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	167
14	Sidik ragam jumlah gabah hampa pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	168
15	Sidik ragam jumlah gabah berisi pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri dan dosis formula biakan bakteri	169
16	Sidik ragam bobot gabah per rumpun pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	170
17	Sidik ragam bobot 1000 butir pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	171
18	Sidik ragam produksi gabah per hektar pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	172

19	Sidik ragam berat basah tanaman pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	173
20	Sidik ragam berat kering pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	174
21	Sidik ragam kandungan N tanah pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	175
22	Sidik ragam kandungan N jaringan tanaman pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	176
23	Sidik ragam serapan N pada perlakuan isolat rizobakteri, bahan pembawa dan dosis formula biakan bakteri	177

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1	Tahapan penelitian	11
2	Kerangka pikir penelitian	12
3	Persamaan garis kurva standar IAA	39
4	Persamaan garis kurva standar IAA	40
5	Grafik perbandingan jumlah isolat rizobakteri fiksasi nitrogen pada dua agroekosistem lahan sawah	64
6	Analisis kuantitatif kemampuan fiksasi nitrogen oleh isolat bakteri dengan metode Kjeldhal	70
7	Analisis kuantitatif kemampuan isolat bakteri menghasilkan IAA	72
8	Analisis kuantitatif kemampuan isolat bakteri menghasilkan GA3	73
9	1 μ L produk PCR dari elektroforesis dengan 0.8% TBE agarose	83
10	Hasil penelusuran BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) Isolat NG4.1 di NCBI	85
11	Hasil penelusuran BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) Isolat NG7.1 di NCBI	86
12	Pohon filogenetik isolat NG4.1	86
13	Pohon filogenetik isolat NG7.1	87
14	Grafik rata-rata umur berbunga pada kombinasi perlakuan isolat bakteri (n) n1: NG7.1; n2:NG4.1 n3: konsorsium bakteri dan bahan carrier (c) c1: arang batok; c2: tepung bentonit serta dosis formula biakan bakteri (p) p1: 4 g, p2: 8 g; p3: 16 g	91

15	Grafik rata-rata jumlah gabah berisi pada kombinasi perlakuan isolat bakteri (n) n1: NG7.1; n2:NG4.1 n3: konsorsium bakteri dan bahan carrier (c) c1: arang batok; c2: tepung bentonit serta dosis formula biakan bakteri (p) p1: 4 g, p2: 8 g; p3: 16 g	96
16	Grafik rata-rata bobot 1000 biji pada kombinasi perlakuan isolat bakteri (n) n1: NG7.1; n2:NG4.1 n3: konsorsium bakteri dan bahan carrier (c) c1: arang batok; c2: tepung bentonit serta dosis formula biakan bakteri (p) p1: 4 g, p2: 8 g; p3: 16 g	98

No.		Halaman
Lampiran		
1	Lokasi pengambilan sampel rizosfer padi sawah pada enam Kabupaten di Sulawesi Selatan.	178
2	Kultur murni isolat bakteri fiksasi nitrogen yang diisolasi dari rizosfer padi pada beberapa lokasi di Sulawesi Selatan	179
3	Uji reaksi gram dengan KOH 3% dan uji reaksi katalase dengan H ₂ O ₂ 3%	179
4	Analisis kualitatif produksi hormon IAA oleh isolat rizobakteri dengan reagen Salkowski, terlihat perubahan warna pada supenatat menjadi merah muda	180
5	Analisis kualitatif produksi hormone GA3 produksi GA3 oleh bakteri dengan perubahan warna yang terjadi pada superanatat menjadi kecoklatan	180
6	Pembuatan formula biakan bakteri dengan bahan <i>carrier</i> tepung bentonit dan arang batok	181
7	Pengukuran kerapatan bakteri pada formula biakan bakteri	181

8	Persiapan kultur isolat dan pengukuran denitas optik dengan spektrofotometer	182
9	Tunas padi pada pengujian pertumbuhan secara <i>in vitro</i>	182
10	Aplikasi formula biakan bakteri pada bahan <i>carrier</i> arang batok	183
11	Aplikasi formula biakan bakteri pada bahan <i>carrier</i> tepung bentonit	183

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbil Alamin, rasanya tidak ada kata yang layak penulis ucapkan selain ungkapan rasa syukur hanya kepada Allah SWT yang telah memberi begitu banyak nikmat dengan limpahan rahmat dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi ini.

Disertasi ini merupakan hasil rangkaian kegiatan selama penulis melakukan penelitian yang disusun dalam rangka memenuhi salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Doktor (Dr.) pada Program Studi Ilmu Pertanian Program Pasca Sarjana Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa penulisan disertasi ini tidak mungkin dapat diselesaikan bila tanpa adanya bantuan dari pihak lain. Oleh karena itu pada kesempatan ini, penulis menyampaikan banyak terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Elkawakib Syam'un, M.P. selaku Promotor yang merupakan sosok yang mengagumkan bagi penulis.. Kepribadiannya yang optimis, arif bijaksana, memiliki harapan tinggi, cerdas, murah senyum dan tulus seakan terus memacu penulis dalam menyelesaikan studi. Kata-kata yang sering beliau sematkan berhasil menantang diri untuk melakukan usaha yang melampaui segala keterbatasan yang penulis miliki. Segala perhatian beliau dalam memberikan arahan, menjadi pemacu semangat bagi penulis untuk segera menyelesaikan disertasi ini.
2. Dr. Ir. Burhanuddin Rasyid, M.Sc. dan Dr. Ir. Feranita, MP. selaku Ko-promotor atas segala kearifan dan ketulusan hati telah meluangkan waktu di tengah kesibukannya yang luar biasa, memberikan arahan,

bimbingan, motivasi, dan perhatian dalam penelitian dan penyelesaian disertasi ini.

3. Prof.Dr.Ir. Tutik Kuswinanti, M.Sc, Dr.Ir. Amir Yassi, M.Si, Dr.Ir. Amirullah Dahlan, M.P dan Dr.Ir. Muh. Jayadi, M.P selaku tim penilai yang begitu banyak memberikan sumbangan pikiran, bantuan dan saran untuk penyempurnaan disertasi ini.
4. Bapak dan Ibu Dosen S3 Ilmu Pertanian yang menjalankan fungsinya dengan sangat baik. Pembelajaran yang penulis dapat tak hanya dari apa yang beliau-beliau sampaikan atau lakukan terhadap penulis, tetapi cara beliau menjalani kehidupan membuat penulis banyak merenung, berpikir dan merasa terinspirasi.
5. Rektor Universitas Hasanuddin (Prof. Dr. Dwia Aries Tina Pulubuhu, M.A.), Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin (Prof.Dr.Ir. Jamaluddin Jompa, M.Sc.), Ketua Program Studi Ilmu Pertanian (Prof.Dr.Ir. Darmawan Salman, M.S.) beserta seluruh jajarannya atas kesempatan yang diberikan kepada penulis untuk mengikuti pendidikan pada Program Doktor (S3) di Program Pasca sarjana Universitas Hasanuddin. Demikian pula kepada seluruh staf administrasi Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas pelayanan administrasi selama penulis mengikuti pendidikan.
6. Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah mendukung penuh finansial selama penulis menempuh studi. LPDP seolah

membuka kesempatan bagi penulis untuk memiliki mimpi yang jauh lebih luas dari sesingkat gelar yang penulis dapatkan.

7. Pimpinan Universitas Muslim Maros dan jajarannya, serta seluruh civitas akademika, para rekan sejawat atas motivasi dan dukungannya selama ini.
8. Asrul Azis, S.E., M.M sang suami yang baik hati, atas segala cinta, pengertian, pengorbanan, ketulusan, kesabaran dan motivasinya yang diberikan kepada penulis. Hormat dan sayang untukmu.
9. Alifah Dhiya Maghfirah dan Muh. Akmal Abiy Chairil anak-anak kebanggaan dan penyejuk hati, yang merupakan sumber motivasi dan inspirasi bagi penulis untuk selalu melakukan yang lebih baik lagi untuk kehidupan ini. Ibu sayang kalian wahai belahan jiwa.
10. Ayahanda H. Abd. Hafid Tiro dan Ibunda drg. Hj. Ernie Arief, M.Kes atas doa dan curahan kasih sayang yang tak lekang oleh waktu. Setiap mengingat mereka, hati penulis bergetar. Tak terhingga cinta, pelajaran, pengorbanan, ketulusan, kesabaran, ketegaran yang telah mereka berikan. Doa yang selalu mereka sisipkan membuat penulis menjadi seperti ini.
11. Orang-orang yang pertama berada di lingkaran hidup penulis, Adik-adik dr. Nikmawati, Sp.S., M.Kes, drg. Fitri Indayani, M.Kes, AAK dan Apt. Meinar Nugraini, S.Si, atas dukungan kesehatan mental penulis dengan seringnya kita *walk the talk*.

12. Teman-teman mahasiswa senasib seperjuangan, yang seperti penulis melalui proses yang sama., beberapa mungkin dari garis start yang berbeda, ada yang melesat di depan, namun mereka tetap menggenggam tangan, menguatkan, mengajari banyak hal kepada penulis.

Disertasi ini bagi penulis bukanlah hanya sebatas sebuah kontribusi pada keilmuan atau penelitian ilmiah semata. Proses yang dilalui dalam pengerjaannya mengubah penulis menjadi pribadi yang sangat berbeda dari sebelumnya. Penulis baru mengerti seseorang yang berhasil mendapatkan gelar doktor bukan hanya karena keilmuan yang mumpuni di bidangnya saja, justru karakter diri yang kuat, matang, gigih dan berkemauan keraslah kuncinya.

Akhir kata penulis mengharapkan disertasi ini bisa menjadi bahan informasi bagi pengembangan ilmu pertanian dan bermanfaat bagi orang banyak.

Makassar, Juni 2021

Penulis

ABSTRAK

NINING HAERANI. Potensi Bakteri Fiksasi Nitrogen Non Simbiotik sebagai Agen Biofertilizer dan Biostimulan pada Padi Sawah (Dibimbing oleh **Elkawakib Syam'un, Burhanuddin Rasyid dan Feranita**).

Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi karakteristik morfologi, fisiologi dan molekuler isolat rizobakteri yang berpotensi sebagai agen biofertilizer dan biostimulan pada padi sawah. Penelitian ini dilaksanakan dalam enam tahapan yaitu (1) isolasi dan karakterisasi morfologi dan fisiologi isolat rizobakteri (2) Menganalisis kemampuan isolat bakteri dalam memfiksasi nitrogen dan menghasilkan hormon. (3) Menganalisis kemampuan isolat rizobakteri dalam pemacuan pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dan fase vegetatif. (4) Menganalisis aktivitas nitrogenase isolat rizobakteri potensial. (5) mengidentifikasi secara molekuler isolat rizobakteri potensial dengan sekuens 16S rRNA, (6) Menganalisis kemampuan isolat rizobakteri dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas padi secara *in planta*. Hasil penelitian menunjukkan terdapat 54 isolat rizobakteri fiksasi nitrogen yang teridentifikasi secara morfologi dan fisiologi. 33 isolat berasal dari sawah tadah hujan dan 21 isolat berasal dari sawah irigasi. Sebanyak 54 isolat rizobakteri mampu memfiksasi nitrogen, menghasilkan hormon auksin (IAA) dan gibberellin (GA3). 15 isolat diantaranya terseleksi sebagai isolat unggul potensial. Diperoleh 5 isolat rizobakteri yang unggul dalam memacu pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dan memacu pertumbuhan fase vegetatif. Diperoleh 2 isolat rizobakteri yang berasal dari sawah tadah hujan yaitu NG7.1 dan NG4.1 yang menunjukkan aktivitas nitrogenase tertinggi. Isolat NG7.1 berhasil teridentifikasi secara molekuler sebagai *Bacillus* sp. (*in bacteria*) strain *InAD-155 16S ribosomal RNA gene partial sequence* dan isolat NG4.1 sebagai *Azotobacter* sp. SBC17 16S ribosomal RNA gene partial sequence. Isolat NG7.1 yang diinokulasi pada tepung bentonit dengan dosis formula biakan bakteri 5 g tanaman⁻¹ memberi pengaruh lebih baik pada uji *in planta*.

Kata kunci: bakteri fiksasi nitrogen, IAA, GA3, sawah tadah hujan, sawah irigasi.

ABSTRACT

NINING HAERANI. Potential of Non-Symbiotic Nitrogen-Fixing Bacteria as Biofertilizer and Biostimulant Agents in Paddy Rice (Supervised by **Elkawakib Syam'un, Burhanuddin Rasyid and Feranita**).

This study aims to identify the morphological, physiological and molecular characteristics of rhizobacterial isolates that have the potential as biofertilizer and biostimulant agents in lowland rice. This research was carried out in six stages, namely (1) isolation and morphological and physiological characterization of rhizobacteria isolates (2) Analyzing the ability of bacterial isolates to fix nitrogen and produce hormones (3) Analyzing the ability of rhizobacteria isolates in promoting plant growth in vitro and in the vegetative phase. (4) Analyzing the nitrogenase activity of potential rhizobacteria isolates. (5) molecularly identify potential rhizobacteria isolates with 16S rRNA sequences, (6) analyze the ability of rhizobacteria isolates to increase rice growth and productivity in planta. The results showed that there were 54 isolates of nitrogen fixation rhizobacteria identified morphologically and physiologically. 33 isolates came from rainfed rice fields and 21 isolates from irrigated rice fields. As many as 54 isolates of rhizobacteria were able to fix nitrogen, produce auxin hormones (IAA) and gibberellins (GA3). 15 isolates were selected as potential superior isolates. There were 5 isolates of rhizobacteria that excel in promoting plant growth in vitro and in promoting the growth of the vegetative phase. Two rhizobacteria isolates were obtained from rainfed rice fields, namely NG7.1 and NG4.1 which showed the highest nitrogenase activity. The NG7.1 isolate was identified molecularly as *Bacillus* sp. (in bacteria) strain InAD-155 16S ribosomal RNA gene partial sequence and isolate NG4.1 as *Azotobacter* sp. SBC17 16S ribosomal RNA gene partial sequence. NG7.1 isolate inoculated on bentonite flour with a bacterial culture formula dose of 5 g plant⁻¹ gave a better effect on the in planta test.

Keywords: nitrogen fixation bacteria, IAA, GA3, rainfed rice field, irrigated rice field.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia tercatat sebagai negara ketiga penghasil beras terbanyak di dunia menurut data *Food and Agriculture Organization* (FAO). Namun disisi lain, Indonesia juga merupakan negara dengan konsumsi beras terbesar di dunia, setidaknya ada 270 juta penduduk yang selama ini bergantung pada makanan pokok jenis beras. Sehingga menjadikan Indonesia sebagai salah satu negara pengimpor beras terbesar dunia.

Mengacu data resmi Badan Pusat Statistik (BPS), produksi padi pada tahun 2019 diperkirakan sebesar 54,60 juta ton GKG atau mengalami penurunan sebanyak 4,60 juta ton atau 7,76 persen dibandingkan tahun 2018 dan 2020. Walaupun pada tahun 2020 terjadi peningkatan tipis sekitar 1.02 persen, namun jumlah penduduk yang mencapai 270 juta jiwa dengan tingkat pertumbuhan sebesar 1,1 persen per tahun (BPS, 2020), menjadikan pangan sebagai masalah yang sensitif baik dari sisi pemenuhan ketersediaan, akses maupun pemanfaatannya terutama beras.

Salah satu penyebab menurunnya produksi padi adalah masalah kesuburan tanah sehingga untuk keberlanjutan produksi pertanian padi

sangat bergantung pada pemupukan yang intensif. Meskipun demikian, penggunaan pupuk anorganik yang dilakukan secara terus menerus dapat mengganggu keseimbangan hara, penipisan unsur mikro seperti Zn, Fe, Cu, Mn, dan Mo di dalam tanah, mempengaruhi aktivitas organisme tanah, serta menurunkan produktivitas pertanian padi dalam jangka panjang. Selain itu penggunaan pupuk anorganik dengan harga yang cukup mahal menyebabkan tingginya biaya produksi pertanian padi (Triyono et al., 2013).

Menurut data Asosiasi Produsen Pupuk Indonesia (APPI), konsumsi pupuk urea sepanjang 2017 terbesar dalam 10 tahun terakhir dengan capaian 5,97 juta ton. Jumlah tersebut melebihi realisasi konsumsi pupuk urea pada 2016 dengan 5,32 juta ton. Adapun rata-rata konsumsi urea nasional dalam 10 tahun belakangan ini adalah 5,59 juta ton per tahunnya (APPI 2021).

Umumnya petani padi memberikan pupuk urea dan ZA dengan takaran yang cukup tinggi, mencapai 300 kg urea dan 50–100 kg ZA ha⁻¹. Bahkan pada beberapa daerah, dosisnya mencapai 400–500 kg urea atau setara dengan 184–230 kg N ha⁻¹. Padahal berdasarkan anjuran, N cukup diberikan 90–120 kg ha⁻¹ atau setara dengan 200–260 kg urea ha⁻¹ (Siregar dan Marzuki, 2011). Di Indonesia, permintaan pupuk N anorganik meningkat dari tahun ke tahun terutama Urea.

Pemberian pupuk N yang berlebihan ini menyebabkan efisiensi pupuk menurun serta membahayakan tanaman dan lingkungan

(Himawan, 2011). Tando (2019) menyatakan bahwa nitrogen merupakan faktor kunci dan masukan produksi yang termahal pada usahatani padi sawah. Apabila penggunaannya tidak tepat dapat mencemari tanah dan air. Kerusakan lingkungan akibat pemupukan N anorganik yang berlebihan disebabkan adanya emisi gas N_2O pada proses amonifikasi, nitrifikasi, dan denitrifikasi. Emisi gas N_2O dipengaruhi oleh takaran pupuk N anorganik yang diberikan; makin tinggi takaran N, makin besar emisi gas N_2O .

Nitrogen menyusun sekitar 78% dari keseluruhan gas yang ada di atmosfer. Meskipun keberadaannya sangat melimpah di atmosfer, nitrogen tidak dapat digunakan langsung oleh tanaman. Pengolahan kimia atau fiksasi alami nitrogen diperlukan untuk mengkonversi gas nitrogen menjadi bentuk yang dapat digunakan tanaman. Fiksasi alami nitrogen dari atmosfer dapat dilakukan bakteri tanah agar ketersediaan unsur nitrogen tanaman tetap tercukupi. Salah satu bakteri yang dapat melakukannya adalah rhizobakteria (Handayanto dan Hairiah, 2007). Rhizobakteria merupakan bakteri yang hidup di daerah perakaran (rhizosfer) tanaman yang memiliki kemampuan mengikat nitrogen bebas di udara dan mereduksinya menjadi senyawa amonia (Dwijoseputro, 1998).

Secara umum, fiksasi nitrogen biologis sebagai bagian dari input nitrogen untuk mendukung pertumbuhan tanaman telah menurun akibat intensifikasi pemupukan anorganik (Tahovská et al. 2013). Penurunan penggunaan pupuk nitrogen yang nyata sepertinya hanya dapat dicapai

jika agen biologis pemfiksasi nitrogen diintegrasikan dalam sistem produksi tanaman (Hindersah et al. 2018c).

Hasil evaluasi selama sepuluh tahun terakhir oleh beberapa penelitian pada beberapa tempat yang tersebar di dunia menunjukkan bahwa bakteri fiksasi nitrogen yang hidup bebas pada perakaran dan dalam jaringan tanaman pada padi, seperti *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, dan *Herbaspirillum* telah terbukti mampu melakukan fiksasi nitrogen (Cappuccino dan Sherman 2011; Sudiarti et al. 2019).

Azospirillum sp dan *Azotobacter* sp mampu meningkatkan hasil tanaman pertanian penting pada jenis tanah dan iklim yang berbeda. Beberapa evaluasi dari hasil penelitian yang pernah dilakukan, diperoleh informasi bahwa inokulan bakteri *Azospirillum* dapat menghemat penggunaan pupuk nitrogen buatan sekitar 15%-60% (Sudiarti et al., 2019). Penelitian *Azospirillum* di Indonesia telah menghasilkan informasi bahwa bakteri tersebut mampu memperbaiki pertumbuhan akar tanaman jagung pada stadia awal pertumbuhan. Inokulasi dapat meningkatkan efisiensi pemupukan N pada tanaman padi sawah maupun padi gogo (Sinaga, 2006).

Penelitian yang dilakukan oleh Syaiful et al. (2013; Haerani et al. (2013) menunjukkan bahwa penggunaan *Azotobacter* dengan dosis 2.5 L ha⁻¹ yang dikombinasikan dengan urea setengah dosis rekomendasi memberikan hasil terbaik pada pertumbuhan dan produksi padi varietas

Inpari Sidenuk dibanding dengan menggunakan urea 100% dosis rekomendasi tanpa pupuk hayati. Penelitian yang dilakukan oleh Hindersah et al. (2018) menjelaskan bahwa *Azotobacter* memiliki aktivitas ganda yaitu menurunkan penggunaan pupuk NPK dan mengendalikan serangan penyakit rebah semai secara signifikan.

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa rhizobacteria pemfiksasi nitrogen, selain mempunyai kemampuan menambat N, juga memproduksi fitohormon (Israwan and Ardyati, 2015) serta eksopoliskarida (Hindersah et al., 2018). Penelitian yang dilakukan oleh (Widawati, 2015) menyimpulkan bahwa, populasi bakteri, indeks pelarutan P, dan PMEase tertinggi dihasilkan oleh *Rhizobium*, *Azotobacter* dan *Azospirillum* yang diisolasi dari rizosfer tanaman teh. Isolat tersebut teridentifikasi sebagai *Azotobacter chroococcum* dan *Azospirillum lipoferum* (non-simbiotik) dan *Rhizobium* sp. (Simbiotik). Seluruh isolat secara kualitatif dapat memproduksi hormon IAA.

Beberapa bakteri fiksasi nitrogen dapat menghasilkan lebih dari satu jenis hormon. Isolat *Rhizobium* mensintesis giberelin dan auksin, *Azotobacter* spp menghasilkan GA, auksin dan sitokinin. Isolat *Acetobacter* dan *Herbaspirillum* menghasilkan IAA dan GA3 (Shridhar et al. 2012). Eksplorasi sejumlah isolat rizobakteri perakaran bawang merah di Gorontalo oleh (Kafrawi et al. 2015) menemukan bahwa Isolat GR 25 menghasilkan auksin dan memfiksasi nitrogen tertinggi masing masing sebesar 2.33 ppm dan 2935.59 ppm dan Giberelin 1,254 ppm.

Siklus Nitrogen yang berkaitan dengan proses nitrifikasi-denitrifikasi sangat ditentukan oleh mikroba tanah yang dipengaruhi kondisi lingkungan setempat, khususnya bahan organik karbon, substrat nitrogen dan ketersediaan oksigen dalam tanah (Rascio and La Rocca, 2018). Walaupun terdapat banyak spesies bakteri yang memiliki kemampuan menambat nitrogen dari udara, tetapi kemampuan bakteri mengekskresikan nitrogen yang ditambat dalam bentuk amonium ke lingkungan bisa berbeda tergantung kemampuannya berasosiasi dan kondisi lingkungan setempat, sehingga kontribusinya dalam menyediakan nitrogen tersedia bagi tanaman juga sangat bervariasi (Hartono dan Oslan Jumadi, 2014). Begitu juga dengan kemampuan menghasilkan hormon (Israwan et al., 2015).

Berdasarkan asumsi tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai potensi bakteri penambat nitrogen non simbiotik sebagai agen biofertilizer dan biostimulan pada padi sawah yang diharapkan dapat meningkatkan produksi padi dan juga mendukung terwujudnya pertanian ramah lingkungan.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah :

1. Apakah terdapat perbedaan karakter morfologi dan fisiologi isolat rizobakteri potensial dari beberapa lokasi lahan sawah di Sulawesi Selatan pada dua agroekosistem yang berbeda?

2. Apakah isolat rizobakteri yang ditemukan berpotensi sebagai biofertilizer karena memiliki kemampuan menyediakan nitrogen dan sebagai biostimulan karena mampu memproduksi *Indol Acetic Acid* (IAA) dan gibberellin (GA3)?
3. Apakah terdapat isolat rizobakteri yang memiliki kemampuan tertinggi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi secara *in vitro* dan fase pertumbuhan vegetatif?
4. Apakah terdapat isolat rizobakteri yang menunjukkan aktivitas nitrogenase tertinggi pada analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA)?
5. Apakah terdapat kemiripan isolat rizobakteri dengan data spesies Gene Bank melalui uji molekuler?
6. Apakah isolat rizobakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi secara *in planta* serta serapan nitrogen dari formula biakan bakteri dengan jenis bahan pembawa yang berbeda?

C. Tujuan Penelitian

1. Menemukan perbedaan karakter morfologi dan fisiologi isolat rizobakteri potensial dari beberapa lokasi lahan sawah di Sulawesi Selatan pada dua agroekosistem yang berbeda.
2. Menguji potensi isolat rizobakteri sebagai biofertilizer karena memiliki kemampuan menyediakan nitrogen dan sebagai biostimulan karena mampu memproduksi *Indol Acetic Acid* (IAA) dan gibberellin (GA3).

3. Menguji kemampuan isolat rizobakteri dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi secara *in vitro* dan fase pertumbuhan vegetatif.
4. Menguji aktivitas nitrogenase isolat rizobakteri melalui analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA).
5. Menemukan kemiripan isolat rizobakteri dengan data spesies Gene Bank melalui uji molekuler.
6. Menguji kemampuan isolat rizobakteri penambat nitrogen dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi secara *in planta* serta serapan nitrogen dari formula biakan bakteri dengan jenis bahan pembawa yang berbeda.

D. Manfaat Penelitian

Secara praktis hasil penelitian ini bermanfaat untuk mendapatkan isolat bakteri pemfiksasi nitrogen yang potensial sebagai agensia hayati serta mendapatkan formula yang sesuai untuk menunjang pertumbuhan dan produksi padi. Secara teoritis diharapkan melalui hasil penelitian ini akan memberikan informasi dan kontribusi sebagai bahan kajian lanjut dalam pemanfaatan bakteri pemfiksasi nitrogen sebagai agen biofertilizer dan biostimulan dalam upaya peningkatan produksi padi yang lebih ramah lingkungan.

E. Kebaruan Penelitian

Kebaruan dari penelitian ini yaitu diperoleh beberapa strain rizobakteri fiksasi nitrogen yang diisolasi dari rhizosfer padi dari dua agroekosistem sawah di Sulawesi Selatan yang memiliki potensi sebagai agen biofertilizer dan biostimulan dalam bentuk formula untuk meningkatkan pertumbuhan dan produksi padi sawah.

F. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini didasarkan pada adanya usaha untuk meningkatkan produktivitas tanaman padi sawah dan efektifitas isolat bakteri penyedia nitrogen dalam memacu pertumbuhan tanaman padi dan mengurangi penggunaan nitrogen anorganik serta meningkatkan efisiensi penyerapan nitrogen pada tanaman padi. Tahap pertama penelitian ini adalah mengisolasi bakteri dari rhizosfer tanaman padi dari beberapa lokasi lahan sawah di Sulawesi Selatan yang dikelola secara intensif yaitu pada lahan sawah tadah hujan dan lahan sawah irigasi. Penapisan ini dilakukan untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri yang memiliki karakter morfologis dan fisiologi sebagai bakteri potensial.

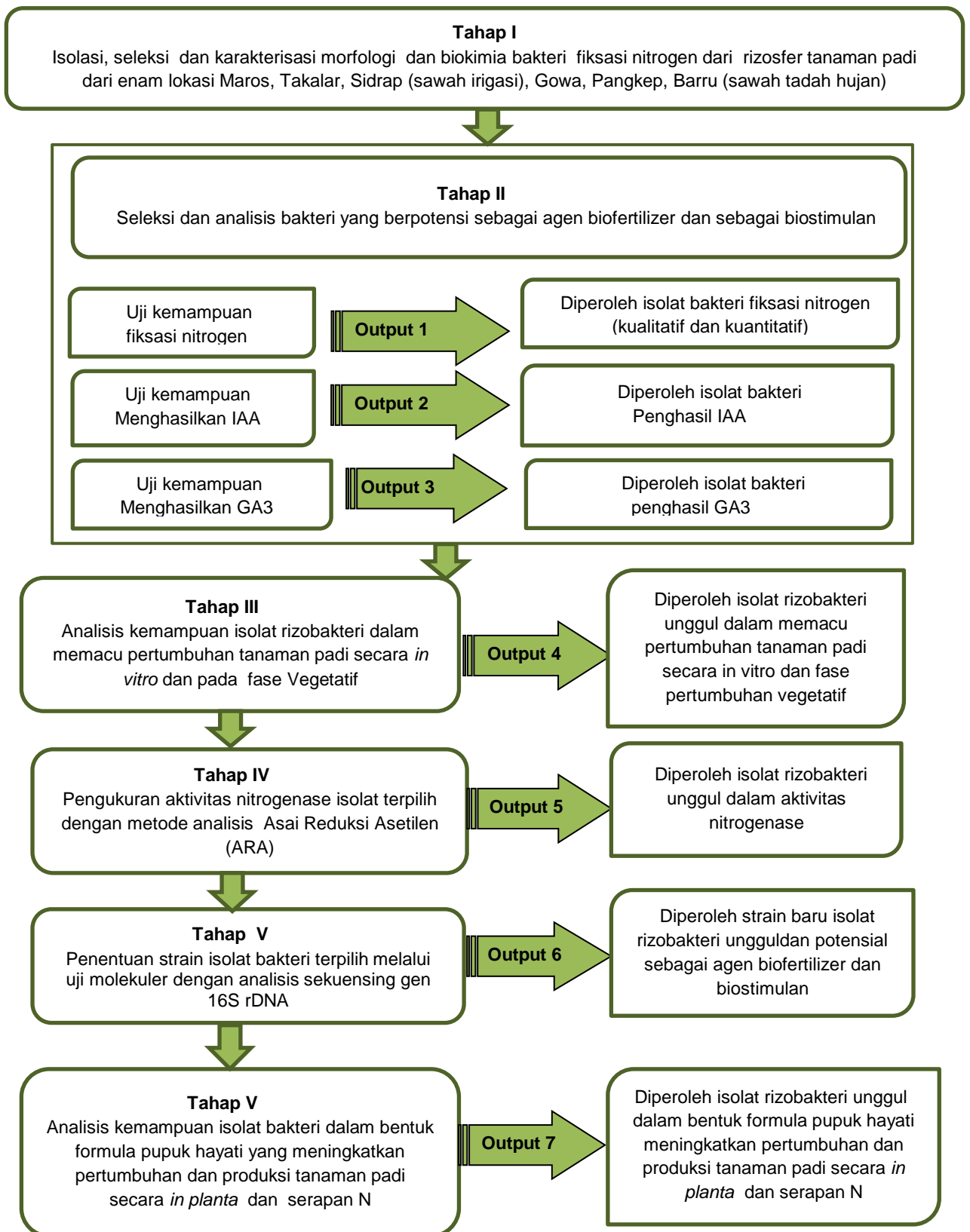
Tahap kedua dilakukan pengujian kemampuan isolat bakteri dalam potensinya sebagai agen biofertilizer (memiliki kemampuan memfiksasi N) dan potensinya sebagai biostimulan (kemampuan menghasilkan hormon). Tujuan dari tahap ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri yang berpotensi sebagai pengikat nitrogen dan penghasil hormon. Tahap ketiga

dilakukan analisis kemampuan isolat bakteri fiksasi nitrogen dalam pemacuan pertumbuhan tanaman secara *in vitro* dan pada fase vegetatif.

Tahap keempat dilakukan analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA) untuk menentukan isolat rizobakteri yang mempunyai kemampuan aktivitas nitrogenase tertinggi. Tahap kelima dilakukan uji molekuler untuk menentukan strain isolat rizobakteri melalui analisis sekuensing dengan melihat kemiripan dengan spesies yang ada pada GeneBank.

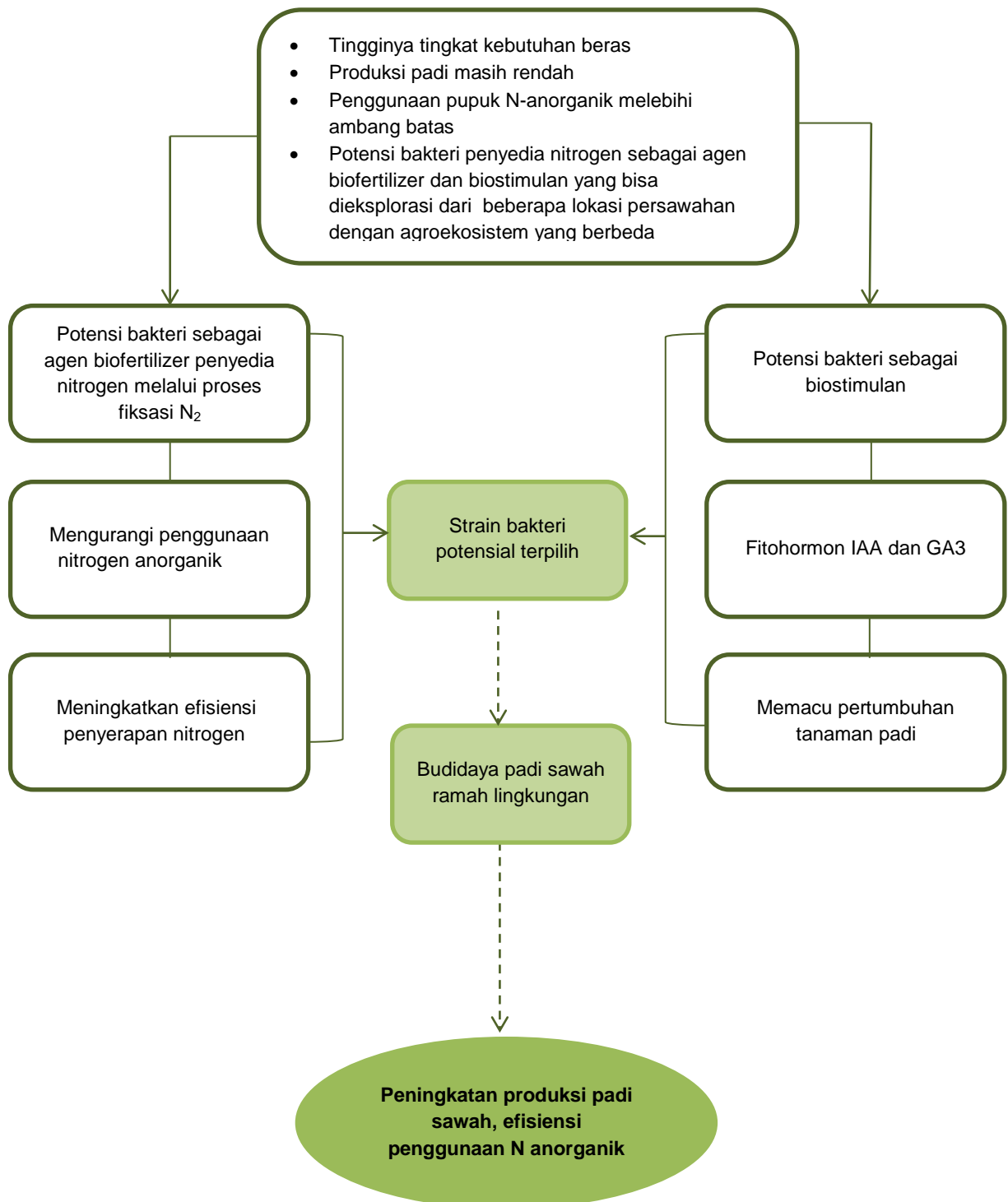
Tahap keenam dari penelitian ini adalah analisis kemampuan isolat rizo bakteri fiksasi nitrogen dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi secara *in planta*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri fiksasi nitrogen non simbiotik sebagai agen biofertilizer dan biostimulan dalam meningkatkan produktivitas tanaman padi dan meningkatkan efisiensi penyerapan nitrogen pada padi. Data-data penelitian dianalisis dengan analisis keragaman terhadap peubah yang diamati.

Tahapan Penelitian



Gambar 1. Tahapan penelitian

G. Kerangka Pikir



Gambar 2. Kerangka pikir penelitian

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Padi Sawah

Padi merupakan tanaman rumput semusim. Batangnya berbentuk bulat, berongga, beruas-ruas, dan berakar serabut. Daun terdiri dari helaian daun yang menyelubungi batang. Bunga membentuk malai yang keluar dari buku atas dengan jumlah bunga tergantung kultivar yang berkisar antara 50-500 bunga, sedangkan buah atau biji padi beragam, ukuran, dan warnanya. Padi tumbuh di daerah tropis tapi masih bisa tumbuh di daerah subtropis dengan beberapa faktor pembatas. Di daerah tropis dan subtropis padi tumbuh dengan subur bila syarat tumbuhnya terpenuhi. Walaupun demikian, untuk produksi dan produktivitas tertinggi diperoleh di daerah beriklim sedang seperti Po Valley, Italy, Bagian Honshu Utara, Jepang, Korea, Selandia Baru, dan Australia (De Datta, 1981).

Padi adalah tanaman budidaya yang sangat penting bagi umat manusia. Hasil padi berupa beras adalah makanan sumber karbohidrat yang utama di kebanyakan negara Asia. Tanaman ini sangat cocok dibudidayakan di daerah tropis seperti Indonesia. Menurut Utama (2015), padi merupakan tanaman yang istimewa karena mempunyai kemampuan beradaptasi hampir pada semua lingkungan, mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi (2000 m dpl). Sesuai data BPS (2018) tentang luas panen dan produksi padi menurut provinsi, pusat penanaman padi di

Indonesia adalah Jawa Timur, Jawa Barat, Jawa Tengah, Sulawesi Selatan, Sumatera Utara, Sumatera Selatan dan Lampung.

Di Sulawesi Selatan sendiri, wilayah produksi padi dibagi menjadi lima wilayah yaitu Ajatappareng (Kabupaten Pangkep, Kabupaten Barru, Kota Pare-pare, Kabupaten Enrekang, dan Kabupaten Pinrang), Bosowasi (Kabupaten Bone, Kabupaten Soppeng, Kabupaten Wajo, dan Kabupaten Sidrap), Luwu Raya (Kabupaten Luwu, Kabupaten Luwu Timur, Kabupaten Luwu Utara, Kota Palopo, Kabupaten Tana Toraja, dan Kabupaten Toraja Utara), Mamminasata (Kota Makassar, Kabupaten Maros, Kabupaten Gowa, Kabupaten Takalar). Selatan-Selatan (Kabupaten Selayar, Kabupaten Bulukumba, Kabupaten Bantaeng, Kabupaten Jeneponto, dan Kabupaten Sinjai).

Pemerintah daerah Sulawesi Selatan telah menjadikan komoditi padi sebagai salah satu komoditas unggulan yang produktivitasnya perlu ditingkatkan. Hal tersebut berkaitan erat dengan nilai strategis beras sebagai produk untuk memenuhi kebutuhan pangan dan gizi masyarakat serta mengandung potensi agribisnis yang menguntungkan bagi pembangunan daerah di Sulawesi Selatan. Menurut Berita Resmi Statistik tentang luas panen dan produksi padi sawah di Sulawesi Selatan, wilayah Bosowasi memiliki luas panen dan produksi padi terbesar yaitu 534.461 Ha dan 2.692.410 ton GKG diikuti oleh Luwu Raya dengan luas panen 176.797 Ha dan produksi 775.660 ton GKG. Selanjutnya di urutan ketiga adalah wilayah Ajatapparang dengan luas panen 166.636 Ha dan

produksi 937.211 ton GKG diikuti Mamminasata dengan luas panen 138.081 Ha dan produksi 643.585 ton GKG. Posisi kelima untuk luas panen adalah wilayah Selatan-selatan dengan luas panen 129.334 Ha, namun untuk produksi sedikit lebih unggul dibanding wilayah Mamminasata, yaitu 691.864 ton GKG (BPS, 2018).

Prihatman (2008), menyebutkan padi dapat dibedakan menjadi padi sawah dan padi gogo. Padi sawah biasanya ditanam di daerah dataran rendah yang memerlukan penggenangan, sedangkan padi gogo ditanam didataran tinggi pada lahan kering. Tidak terdapat perbedaan morfologis dan biologis antara padi sawah dan padi gogo, yang membedakan hanyalah tempat tumbuhnya (Syafuruddin et al., 2017).

Padi sawah adalah padi yang ditanam di lahan sawah. Di Indonesia padi sawah menjadi tumpuan sumber pangan. Sebagian besar lahan ditanami padi sawah baik varietas unggul maupun varietas lokal. Lahan sawah adalah lahan pertanian yang berpetak-petak dan dibatasi oleh pematang (galengan), saluran untuk menahan/menyalurkan air, yang biasanya ditanami padi sawah tanpa memandang dari mana diperolehnya atau status lahan tersebut. Termasuk disini lahan yang terdaftar di pajak hasil bumi, iuran pembangunan daerah, lahan bengkok, lahan serobotan, lahan rawa yang ditanami padi dan lahan-lahan bukaan baru. Lahan sawah mencakup sawah pengairan, tadah hujan, sawah pasang surut, rembesan, lebak dan lain sebagainya

Berdasarkan sumber air yang digunakan dan keadaan genangannya, sawah dapat dibedakan menjadi sawah irigasi, sawah tadah hujan, sawah lebak, dan sawah pasang surut. Sawah irigasi adalah sawah yang menggunakan sistem irigasi teratur (teknis). Pengairan sawah irigasi berasal dari sungai, bendungan atau waduk. Sawah irigasi dibedakan atas sawah irigasi teknis, sawah irigasi semi teknis dan sawah irigasi sederhana. Sawah irigasi teknis yaitu pengairannya berasal dari sungai, waduk, dam atau danau dan dialirkan melalui saluran induk (primer) yang selanjutnya dibagi-bagi ke dalam saluran sekunder dan tersier melalui bangunan pintu pembagi air. Sawah irigasi sebagian besar dapat ditanami padi dua kali atau lebih dalam setahun (Puslitbangtanak, 2003).

Padi sawah ditanam di tanah berlempung yang berat atau tanah yang memiliki lapisan keras 30 cm di bawah permukaan tanah. Menghendaki tanah lumpur yang subur dengan ketebalan 18-22 cm dengan tingkat keasaman tanah antara pH 4,0-7,0. Pada padi sawah, penggenangan akan mengubah pH tanah menjadi netral (7,0). Pada prinsipnya tanah berkapur dengan pH 8,1-8,2 tidak merusak tanaman padi. Karena mengalami penggenangan, tanah sawah memiliki lapisan reduksi yang tidak mengandung oksigen dan pH tanah sawah biasanya mendekati netral (Prihatman, 2008).

Menurut Utama (2015), berdasarkan tempat membudidayakannya, tanaman padi dapat dikelompokkan menjadi padi sawah, padi ladang

(gogo) dan padi rawa. Sistem budidaya padi sawah sudah dikenal sejak 6.380 tahun SM. Kelompok padi tersebut mampu memproduksi dengan baik pada masing-masing lingkungannya. Tingkat produksi dari masing-masing kelompok tersebut sangat bervariasi. Pada umumnya, tingkat produksi padi sawah jauh lebih tinggi dibanding dengan kedua kelompok lainnya. Hal ini terjadi karena pola budidaya pada lahan sawah sudah sangat intensif dan banyak masukan teknologi yang diterapkan serta didukung oleh varietas-varietas unggul hasil pemuliaan tanaman yang dikembangkan oleh pemulia tanaman padi.

Beberapa varietas padi sawah yang telah berhasil dirilis adalah BS 88 SHS, BS 99 SHS, Chandra, DG 5 SHS, Hipa 12 SBU, Hipa 14 SBU, Hipa Jatim 1, Hipa Jatim 2, Hipa Jatim 3, Inpari 16 Pasundan, Inpari 19, Inpari 21, Inpari 24, Inpari 25, Inpari 26, Inpari 27, Inpari 28, Inpari 29, Inpari 30, Batipuah, IPB 35, IPB 45, Mekongga, Ciapus, Tukad Balian dan Krueng Aceh.

Pertumbuhan dan produksi padi sawah sangat bergantung pada terpenuhinya kebutuhan nutrisinya berupa unsur hara makro dan mikro yang sebagian besar diperoleh dari pemupukan. Aryanto et al. (2015) menyatakan bahwa pupuk merupakan salah satu faktor utama pada usaha tani padi. Salah satu unsur hara yang penting dan harus tersedia bagi tanaman adalah nitrogen. Kebutuhannya lebih tinggi dibandingkan dengan unsur hara lainnya. Unsur nitrogen diserap tanaman dalam bentuk amonium dan nitrat.

B. Nitrogen

Nitrogen adalah unsur yang diperlukan untuk membentuk senyawa penting di dalam sel, termasuk protein, DNA dan RNA. Tanaman harus mengekstraksi kebutuhan nitrogennya dari dalam tanah. Sumber nitrogen yang terdapat dalam tanah, makin lama makin tidak mencukupi kebutuhan tanaman, sehingga perlu diberikan pupuk sintetis yang merupakan sumber nitrogen untuk mempertinggi produksi (Witte, 2011). Sementara itu Balasooriya et al. (2016); Makarim dan Suhartatik (2009) menyatakan bahwa untuk mencapai jumlah gabah yang banyak dapat dilakukan dengan pemberian nitrogen atau bahan organik yang optimal sehingga dapat memenuhi kebutuhan tanaman untuk tumbuh dan berkembang.

Nitrogen merupakan elemen penting dalam banyak senyawa biokimia (seperti fosfat nukleotida, asam amino, protein, dan asam nukleat) dari sel-sel hidup. Hanya oksigen, karbon, dan hidrogen yang lebih berlimpah di dalam sel. Masuknya nitrogen organik dalam rantai makanan ekosistem alam pada dasarnya karena aktivitas organisme fotoautotropik (cyanobacteria, ganggang, dan tanaman terestrial). Produsen primer ini mengambil nitrogen dari lingkungan terutama sebagai nitrat, mengurangi ke amonia, dan kemudian berasimilasi amonia menjadi senyawa organik untuk membentuk asam amino (Rascio dan La Rocca 2018).

Unsur hara N biasanya defisien, yang mengakibatkan penurunan produksi pertanian di seluruh dunia. Hakim et al. (1986) mengemukakan

bahwa nitrogen yang terdapat dalam tanah sedikit, sedangkan yang diangkut tanaman berupa panen setiap tahun cukup besar. Di samping itu senyawa nitrogen anorganik mudah larut dan mudah hilang dalam air drainase/irigasi atau menguap ke atmosfer. Jika unsur N terdapat dalam keadaan kurang, maka pertumbuhan dan produksi tanaman akan terganggu (Adnyana, 2014).

Kebutuhan nitrogen untuk komoditas pertanian pada umumnya dipenuhi dengan dua cara yaitu (1) pupuk kimia/buatan, manure, dan/atau mineralisasi dari bahan organik, dan (2) melalui penambatan N atmosfer melalui proses simbiosis (Agung dan Rahayu, 2004). Pemakaian pupuk N buatan yang terus menerus atau berlebihan akan mengakibatkan kerusakan lingkungan baik tanah maupun air tanah (Gonggo et al., 2006)

Tumbuhan kehilangan sedikit nitrogen ke dalam atmosfer dalam bentuk NH_3 , N_2O , NO_2 dan NO yang mudah menguap, khususnya bila dipupuk nitrogen (Salisbury dan Ross, 1995). Bentuk teroksidasi nitrogen di atmosfer secara ekologi penting karena bila diubah menjadi NO_3^- akan menyumbang HNO_3^- bagi hujan asam. Selanjutnya Campbell et al. (2002) mengemukakan bahwa pencucian NO_3^- akan menurunkan kualitas air tanah dan emisi N_2O berkontribusi terhadap efek rumah kaca dan menyebabkan terjadinya pemanasan global. Residu pupuk N yang cukup besar tertinggal dalam tanah sebagai akibat tidak efisiennya tanaman menggunakan pupuk N berimplikasi negatif terhadap lingkungan dan kesehatan (Sun et al., 2019).

Nitrifikasi oleh mikroorganisme dan denitrifikasi N tanah merupakan kontributor utama emisi NO_2 dan N_2O (Pereg et al., 2018; Han et al., 2018). Pupuk N yang tidak dimanfaatkan oleh tanaman secara cepat akan memasuki permukaan tanah dan air tanah melalui runoff dan leaching. Ekses dari NO_3^- pada air minum yang berasal dari pupuk berakibat methemoglobin anemia pada bayi dan anak-anak bila konsentrasinya melebihi $10 \text{ mg NO}_3 \cdot \text{L}^{-1}$ (Naghdi et al., 2018).

Sebagai pelengkap bagi peranannya dalam sintesa protein, Nitrogen merupakan bagian tak terpisahkan dari molekul klorofil dan karenanya suatu pemberian Nitrogen dalam jumlah cukup akan mengakibatkan pertumbuhan vegetatif yang subur dan warna daun hijau gelap. Pemberian Nitrogen (N) yang berlebihan dalam lingkungan tertentu dapat menunda fase generatif tanaman dan bahkan tidak terjadi sama sekali. Secara fungsional, nitrogen juga penting sebagai penyusun enzim yang sangat besar peranannya dalam proses metabolisme tanaman, karena enzimnya tersusun dari protein. Nitrogen merupakan unsur amat mobil dalam tanaman yang berarti bahwa protein fungsional yang mengandung Nitrogen dapat terurai pada bagian tanaman yang lebih tua, kemudian diangkut menuju jaringan muda yang tumbuh aktif (Tando, 2018).

Nitrogen mempunyai peran penting bagi tanaman padi yaitu: mendorong pertumbuhan tanaman yang cepat dan memperbaiki tingkat hasil dan kualitas gabah melalui peningkatan jumlah anakan,

pengembangan luas daun, pembentukan gabah, pengisian gabah, dan sintesis protein. Unsur Nitrogen merupakan unsur yang cepat kelihatan pengaruhnya terhadap tanaman padi sawah, peran utama unsur ini adalah; merangsang pertumbuhan vegetatif (batang dan daun), meningkatkan jumlah anakan, meningkatkan jumlah bulir per rumpun, kekurangan unsur nitrogen menyebabkan, pertumbuhannya kerdil, daun tampak kekuning-kuningan, sistem perakaran terbatas dan kelebihan unsur nitrogen menyebabkan tanaman, pertumbuhan vegetatif memanjang (lambat panen), mudah rebah, menurunkan kualitas bulir dan respon terhadap serangan hama/ penyakit (Rauf et al., 2010).

Tanaman padi yang kekurangan nitrogen anakannya sedikit dan pertumbuhannya kerdil. Daun berwarna hijau kekuning-kuningan dan mulai mati dari ujung kemudian menjalar ke tengah helai daun. Sedangkan jika Nitrogen diberikan berlebih akan mengakibatkan kerugian yaitu: melunakkan jerami dan menyebabkan tanaman mudah rebah dan menurunkan kualitas hasil tanaman. Ada tiga hal yang menyebabkan hilangnya Nitrogen (N) dari tanah yaitu: nitrogen dapat hilang karena tercuci bersama air drainase, penguapan dan diserap oleh tanaman. Keberadaan nitrogen pada tanah sawah sangat mempengaruhi pertumbuhan vegetatif tanaman padi sawah (Ma et al., 2019).

C. Peranan Bakteri Fiksasi Nitrogen

Nitrogen menyusun sekitar 78% dari keseluruhan gas yang ada di atmosfer. Meskipun keberadaannya sangat melimpah di atmosfer, nitrogen

tidak dapat digunakan langsung oleh tanaman. Pengolahan kimia atau fiksasi alami nitrogen diperlukan untuk mengkonversi gas nitrogen menjadi bentuk yang dapat digunakan tanaman. Fiksasi alami nitrogen dari atmosfer dapat dilakukan bakteri tanah agar ketersediaan unsur nitrogen tanaman tetap tercukupi meskipun tumbuh di wilayah marginal dengan kandungan unsur hara yang sangat rendah seperti pesisir pantai. Salah satu bakteri yang dapat melakukannya adalah rhizobakteria (Zalidis et al., 2002).

Rizobakteria merupakan bakteri yang hidup di daerah perakaran (*rhizosfer*) tanaman yang memiliki kemampuan mengikat nitrogen bebas di udara dan mereduksinya menjadi senyawa ammonia (Tarigan et al., 2013). Hasil penelitian Hartono dan Jumadi (2015) menunjukkan terdapat 20 isolat bakteri yang mampu tumbuh pada medium bebas nitrogen, namun setelah dilakukan uji ekskresi amonium hanya diperoleh 9 isolat yang memiliki kemampuan mengekskresikan amonium dari masing-masing medium pertumbuhan. Isolat bakteri dan konsentrasi amonium yang diekskresikan masing-masing adalah ABJ211 ($179 \mu\text{g L}^{-1}$), ABP213 ($269 \mu\text{g L}^{-1}$), ABP211 ($162 \mu\text{g L}^{-1}$), ABP131 ($254 \mu\text{g L}^{-1}$), ABP242 ($104 \mu\text{g L}^{-1}$), BBJ221 ($263 \mu\text{g L}^{-1}$), BBJ222 ($272 \mu\text{g L}^{-1}$), BBP222 ($269 \mu\text{g L}^{-1}$) dan BBP214 ($257 \mu\text{g L}^{-1}$). Kesembilan isolat tersebut memiliki karakteristik morfologi dan fisiologis yang bervariasi terutama pada sifat struktur dinding sel (gram), kemampuan hidrolisis pati, gelatin dan kasein,

sementara kemampuan dalam mereduksi nitrat dan H_2O_2 (reaksikatalase positif) serta fermentasi glukosa menunjukkan karakter yang seragam.

Nitrogen merupakan suatu unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah banyak, yang berfungsi sebagai penyusun protein dan penyusun enzim. Tanaman memerlukan suplai nitrogen pada semua tingkat pertumbuhan, terutama pada awal pertumbuhan, sehingga adanya sumber N yang murah akan sangat membantu mengurangi biaya produksi. Mikroba yang berpotensi sebagai agen *biofertilizer* dan *biostimulan* adalah bakteri pengikat nitrogen yang mampu menghasilkan IAA (*indole acetic acid*) dan melarutkan fosfat. Kombinasi dari bakteri tersebut akan menyediakan unsur hara penting hingga dapat diserap oleh tanaman dengan mudah (Israwan dan Ardyati 2015)

Ditinjau dari aspek ekologi, bakteri penambat N bebas yang mengkolonisasi tanaman gramineae dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan yaitu: (a) bakteri rizosfer penambat N_2 (diazotrof) (heterotrofik dan fototrofik); (b) bakteri diazotrof endofitik fakultatif; dan (c) bakteri diazotrof endofitik obligat. Bakteri penambat N_2 di daerah perakaran dan bagian dalam jaringan tanaman padi, yaitu *Pseudomonas* spp., Enterobacteriaceae, Bacillus, Azotobacter, Azospirillum dan Herbaspirillum telah terbukti mampu meningkatkan secara nyata penambatan N_2 (Numan et al. 2018). Bakteri penambat N_2 pada rizosfer tanaman gramineae, seperti *Azotobacter paspali* dan *Beijerinckia* spp. termasuk salah satu dari kelompok bakteri aerobik yang mengkolonisasi

permukaan akar (Baldani et al., 1997). *Azotobacter* merupakan bakteri penambat N₂ yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh giberelin, sitokinin, dan asam indol aasetat, sehingga pemanfaatannya dapat mendorong pertumbuhan akar (Carlos et al., 2016). Populasi *Azotobacter* dalam tanah dipengaruhi oleh pemupukan dan jenis tanaman (Shridhar et al., 2012).

Ditinjau dari aspek ekologi, bakteri penambat N₂ yang mengkolonisasi tanaman gramineae dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan yaitu: (a) bakteri rizosfer penambat N₂ (diazotrof) (heterotrofik dan fototrofik); (b) bakteri diazotrof endofitik fakultatif; dan (c) bakteri diazotrof endofitik obligat. Bakteri penambat N₂ di daerah perakaran dan bagian dalam jaringan tanaman padi, yaitu beberapa bakteri di antaranya *Pseudomonas* spp., *Enterobacteriaceae*, *Bacillus*, *Azotobacter*, *Azospirillum* dan *Herbaspirillum* telah terbukti mampu meningkatkan secara nyata penambatan N₂ (Shridhar et al., 2012). Bakteri penambat N₂ pada rizosfer tanaman gramineae, seperti *Azotobacter paspali* dan *Beijerinckia* spp. termasuk salah satu dari kelompok bakteri aerobik yang mengkolonisasi permukaan akar (Baldani et al., 1997). *Azotobacter* merupakan bakteri penambat N₂ yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh giberelin, sitokinin, dan asam indol aasetat, sehingga pemanfaatannya dapat memacu pertumbuhan akar. Populasi *Azotobacter* dalam tanah dipengaruhi oleh pemupukan dan jenis tanaman (Said-Pullicino et al., 2014).

Penambatan nitrogen secara hayati yang non simbiotik dilakukan oleh jasad mikro yang hidup bebas. Enterobacteriaceae, Bacillus, Azotobacter, Azospirillum, dan Herbaspirillum telah terbukti mampu melakukan fiksasi N_2 (Khatoon et al. 2020). Di samping itu, Azotobacter merupakan bakteri fiksasi N_2 yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh giberelin dan sitokinin sehingga dapat memacu pertumbuhan akar (Geddes et al. 2015).

Faktor-faktor yang mempengaruhi penambatan nitrogen non simbiotik adalah faktor lingkungan, terutama ciri kimia dan fisika habitatnya (Isminarni, 2007). Faktor-faktor tersebut meliputi:

a). Ketersediaan senyawa nitrogen

Jasad mikropenambat N_2 pada umumnya juga mampu menggunakan amonium, nitrat, dan senyawa nitroge organik. Amonium lebih disukai dan bersama-sama dengan senyawa-senyawa yang dapat diubah menjadi amonium (seperti urea dan nitrat) merupakan penghambat penambatan nitroge yang paling efektif.

b). Ketersediaan nutrien anorganik

Bila jasad mikro penambatan nitrogen ditumbuhkan pada media yang mengandung garam-garam amonium dan senyawa nitrogen lainnya, beberapa nutrien anorganik diperlukan dalam jumlah lebih sedikit daripada medium tersebut bebas dari nitrogen.

c). Macam sumber energi yang tersedia

Bagi jasad heterotrof, tersedianya sumber energi merupakan faktor utama yang membatasi laju dan besarnya asimilasi N_2 . Penambahan gula sederhana, selulosa, jerami, atau sisa-sisa tanaman dengan nisbah C/N yang tinggi seringkali meningkatkan dengan nyata transformasi N;

d). pH

pH mempunyai pengaruh yang nyata, Azotobacter dan Sianobakteri tergolong sangat peka pada tanah-tanah dengan pH kurang dari 6,0 sedangkan Beijerinckia tidak peka dan dapat tumbuh dan menambat N_2 pada pH 3-9.

e). Kelembaban tanah

Kelembaban tanah sering kali menentukan laju penambatan nitrogen dan kandungan air optimum tergantung pada tanah yang bersangkutan dan jumlah bahan organik yang tersedia. Bila kelembaban terlalu tinggi maka keadaan aerobik berubah menjadi anaerobik.

f). Suhu

Suhu optimum bagi penambatan nitrogen adalah suhu sedang. Penambatan terhenti pada suhu beberapa derajat di atas suhu optimum. Di beberapa daerah beriklim sedang bagian utara didapati bahwa penambatan nitrogen masih berlangsung sekalipun pada musim dingin. Jasad mikro pelakunya diperkirakan algae atau lumut kerak. Kadar N total menunjukkan jumlah keseluruhan nitrogen di dalam bahan organik yang

diberi inokulan penambat N, termasuk di dalamnya protein, asam amino dan N mineral.

Kemampuan bakteri penambat N non simbiotik untuk mengikat nitrogen tanpa kehadiran inang dan kemampuannya untuk hidup pada kondisi masam membuat kelompok bakteri ini memiliki tingkat toleransi tinggi terhadap lingkungannya. Genus *Azotobacter* tumbuh dengan baik pada kondisi NH_3 juga pada berbagai jenis media seperti karbohidrat, alkohol dan asam organik. *Azotobacter* bersifat aerob obligat, namun enzim nitrogenasenya sangat sensitif terhadap oksigen sama seperti nitrogenase lainnya, oleh karena itu *Azotobacter* melakukan respirasi tinggi untuk melindungi nitrogenase dari O_2 sehingga konsentrasi O_2 intraseluler pada *Azotobacter* relatif lebih sedikit (Yuan et al, 2018). Menurut Rao (1994), bakteri penambat N non simbiotik mampu menyumbang sekitar 10 sampai 15 kgN Ha^{-1} per tahun, tergantung dari tersedianya sumber karbon.

Mikroba rizosfer dapat memberi keuntungan bagi tanaman dikarenakan dapat melarutkan dan menyediakan mineral seperti N, P, Fe dan unsur lain, dapat menghasilkan vitamin, asam amino, auxin dan giberelin yang dapat menstimulir pertumbuhan tanaman, dan mikroba yang menguntungkan akan menghambat pertumbuhan bakteri lain yang patogenik dengan menghasilkan antibiotik (Sumarsih, 2008).

D. Hipotesis

1. Terdapat perbedaan karakter morfologi dan fisiologi isolat rizobakteri potensial dari beberapa lokasi lahan sawah di Sulawesi Selatan pada dua agroekosistem yang berbeda.
2. Isolat rizobakteri yang ditemukan berpotensi sebagai biofertilizer karena memiliki kemampuan menyediakan nitrogen dan sebagai biostimulan karena mampu memproduksi *Indol Acetic Acid* (IAA) dan gibberellin (GA_3).
3. Terdapat strain isolat rizobakteri yang memiliki kemampuan tertinggi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi secara *in vitro* dan fase pertumbuhan vegetatif.
4. Terdapat isolat rizobakteri yang menunjukkan aktivitas nitrogenase tertinggi pada analisis Asai Reduksi Asetilen (ARA).
5. Terdapat kemiripan isolat rizobakteri dengan data spesies Gene Bank melalui uji molekuler.
6. Isolat rizobakteri penambat nitrogen memiliki kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi secara *in planta* serta serapan nitrogen dari formula biakan bakteri dengan jenis bahan pembawa yang berbeda.