

**PGPR (*PLANT GROWTH PROMOTION RHIZOBACTERIA*)  
ASAL PADI LOKAL AROMATIK SULAWESI TENGAH:  
KARAKTERISASI DAN POTENSINYA UNTUK MEMACU  
PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS PADI**

*PGPR (PLANT GROWTH PROMOTION RHIZOBACTERIA)  
FROM LOCAL AROMATIC RICE OF CENTRAL SULAWESI:  
THEIR CHARACTERIZATION AND POTENTIAL TO  
PROMOTE GROWTH AND PRODUCTIVITY OF RICE*

**SRI SUDEWI**



**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

**PGPR (*PLANT GROWTH PROMOTION RHIZOBACTERIA*)  
ASAL PADI LOKAL AROMATIK SULAWESI TENGAH:  
KARAKTERISASI DAN POTENSINYA UNTUK MEMACU  
PERTUMBUHAN DAN PRODUKTIVITAS PADI**

Disertasi

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Doktor

Program Studi

Ilmu Pertanian

Disusun dan diajukan oleh

**SRI SUDEWI**

kepada

**PROGRAM PASCASARJANA  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2020**

DISERTASI

**PGPR (*PLANT GROWTH PROMOTION RHIZOBACTERIA*) ASAL  
PADI LOKAL AROMATIK SULAWESI TENGAH: KARAKTERISASI  
DAN POTENSINYA UNTUK MEMACU PERTUMBUHAN DAN  
PRODUKTIVITAS PADI**

Disusun dan Diajukan oleh

**SRI SUDEWI**

**Nomor Pokok P0100316410**

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Disertasi

Pada Tanggal 14 Oktober 2020

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Tim Promotor

Prof. Dr. Ir. Ambo Ala, MS

Promotor

Prof. Dr. Ir. Baharuddin., Dipl. Ing

Ko Promotor

Dr. Ir. Muh. Farid., BDR, MP

Ko Promotor

Ketua Program Studi  
Ilmu Pertanian

Dekan Sekolah Pascasarjana  
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Ir. Darmawan Salman, MS

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

## PERNYATAAN KEASLIAN DISERTASI

Yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sri Sudewi  
Nomor Induk Mahasiswa : P0100316410  
Program Studi : Ilmu Pertanian

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa disertasi yang saya tulis ini **benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan** pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan disertasi ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 20 Oktober 2020

Yang menyatakan



Sri Sudewi

## PROMOTOR, KOPROMOTOR DAN PENGUJI

- i. PROMOTOR : Prof. Dr. Ir. Ambo Ala, MS
- ii. KOPROMOTOR : Prof. Dr. Ir. Baharuddin, Dipl.Ing
- iii. KOPROMOTOR : Dr. Ir. Muh. Farid BDR., MP
- iv. PENGUJI : Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc
- v. PENGUJI : Dr. Ir. Syatrianty Andi Syaiful, MS
- vi. PENGUJI : Dr. Ir. Amirullah Dachlan., MP
- vii. PENGUJI : Dr. Ir. Burhanuddin Rasyid., M.Sc
- viii. PENGUJI EKSTERNAL : Dr. Ir. Fadjri Jufri.,M.Si

## PRAKATA

***Bismillahirrohmanirrohim***, ucapan syukur Alhamdulillah penulis haturkan atas kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat dan hidayahNya kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian hingga proses akhir penulisan disertasi ini. Berkat izin dan takdir-Nya segala usaha dapat terwujud, urusan dipermudah dan doa-doa terkabulkan. Penelitian dan penulisan disertasi ini tidak dapat terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak, oleh karena itu penulis tak lupa menyampaikan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Ambo Ala., MS. Selaku Promotor yang telah banyak meluangkan waktu untuk memberikan ide-ide yang cemerlang, bimbingan, pemikiran, petunjuk serta dukungan moril bagi penulis sehingga penulis semangat menyelesaikan penelitian hingga penyelesaian disertasi ini.
2. Prof. Dr. Ir. Baharuddin, Dipl.Ing dan Dr. Ir. Muh. Farid BDR., MP. Selaku tim Kopromotor yang telah banyak memberiklan saran-saran berharga, arahan dan petunjuk atas kendala-kendala yang dihadapi sejak awal penelitian hingga selesainya penulisan disertasi ini.
3. Prof. Dr. Ir. Yunus Musa, M.Sc, Dr. Ir. Syatrianty Andi Syaiful, MS, Dr. Ir. Amirullah Dachlan., MP, dan Dr. Ir. Burhanuddin Rasyid., M.Sc. masing-masing selaku tim penguji dan Dr. Ir. Fadjri Jufri, M.Si selaku penguji eksternal yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran-saran, sumbangan pemikiran, koreksi bagi penyempurnaan penulisan disertasi.
4. Beasiswa Unggulan Dosen Indonesia\_Dalam Negeri (BUDI\_DN) kerja sama antara Kementerian RistekDikti dan LPDP yang telah memfasilitasi biaya studi penulis pada program studi Ilmu Pertanian Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.

5. Rektor Universitas Al-Khairaat (UNISA) Palu Dr. Umar Alatas.,M.Si yang telah berkenan memberikan izin kepada penulis untuk melanjutkan studi. Dekan beserta Wakil dekan, rekan sejawat dan staf Dosen Fakultas Pertanian UNISA atas dukungannya selama ini.
6. Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanudddin beserta Wakil dekan dan seluruh staf. Ketua program studi S3 Ilmu Pertanian Universitas Hasanuddin beserta seluruh dosen program studi Ilmu Pertanian.
7. Teman-teman seangkatan Program Doktor Ilmu Pertanian 2016 kalian teman-teman luar biasa. Rekan-rekan Puslitbang PKP dan Exfarm terima kasih atas bantuan dan kebersamaannya selama ini. Seluruh pihak yang telah memberikan bantuan namun tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Ucapan terima kasih tak terhingga kepada Ibunda tercinta Hasnita Hasan dan Hj. Norma atas segala pengorbanan, dan doa yang terus mengalir untuk penulis selama ini. Ayahanda Alm. Rustan Rahman dan Alm. H. Zain yang selalu mendoakan penulis semasa hidupnya. Kepada saudara-saudaraku tercinta Sri Sastriani, Muh. Gazali, Sri Astuti terima kasih atas doa dan dukungannya selama ini. Keluarga besarku H. Muh. Hasan atas segala dukungan moril dan semangat untuk menyelesaikan studi. Kepada suamiku tercinta Abdul Rahim Saleh dan anak-anakku tersayang Zynercah Azkayra Rahim dan Zhafran Khayri, atas pengorbanan dan kesabarannya tanpa pamrih kepada penulis.

Akhir kata penulis sangat berharap semoga penelitian ini dapat berkontribusi pada perkembangan ilmu dan teknologi pertanian khususnya pemanfaatan mikroorganisme rhizosfer terhadap budidaya tanaman padi di masa yang akan datang.

Makassar, 2020

Penulis

## ABSTRAK

**SRI SUDEWI.** PGPR asal Padi Lokal Aromatik Sulawesi Tengah: Karakterisasi dan Potensinya untuk Memacu Pertumbuhan Dan Produktivitas Padi (Dibimbing oleh **Ambo Ala, Baharuddin dan Muh. Farid BDR**).

Penelitian ini bertujuan memperoleh dan mengidentifikasi sifat karakteristik morfologi fisiologi dan molekuler isolat mikroba yang bersifat Plant Growth Promoting Rizobacteria (PGPR) yang berpotensi biostimulant, biofertilizer, bioprotektan dan yang berpotensi patogen terhadap tanaman, sebagai pemacu pertumbuhan tanaman secara in vitro dan produktivitas tanaman padi secara in planta.

Penelitian ini terdiri atas 5 tahapan yaitu (1) mengisolasi mikroba PGPR dari rizosfer tanaman padi lokal Kamba Sulawesi Tengah (2) menganalisis kemampuan isolat PGPR yang berpotensi sebagai biostimulan, biofertilizer, bioprotektan serta patogenitas pada tanaman (3) menganalisis kemampuan isolat PGPR dalam pemacu pertumbuhan tanaman secara in vitro, (4) mengidentifikasi secara molekuler isolat PGPR dengan sekuens 16S rRNA, (5) menganalisis kemampuan isolat PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas padi secara in planta.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat 86 isolat bakteri dari rizosfer padi lokal Kamba teridentifikasi secara morfologi, semua isolat difokuskan pada bakteri Gram positif dan penghasil enzim katalase. Isolat terbaik yang menghasilkan IAA adalah KLE25 ( $11.429 \text{ mg L}^{-1}$ ), Gibberelin adalah KBK14 ( $4.584 \text{ mg L}^{-1}$ ), fiksasi nitrogen KLE19 (0.39%), pelarut fosfat RKGU4 ( $14.351 \text{ mg L}^{-1}$ ), produksi siderofor RKLE10 ( $12.038 \text{ mg L}^{-1}$ ), produksi HCN 3 isolat yaitu KBU22, KLE19 dan RKGU15. Isolat unggul terpilih tidak berpotensi patogen bagi tanaman. KLE25 dan KLE19 memiliki karakteristik PGPR terbaik sebagai pemacu pertumbuhan tanaman. Isolat KBU22 dan KLE19 teridentifikasi secara molekuler sebagai *Bacillus sp* dan *Bacillus amyloliquefaciens*. Terdapat perbedaan respons varietas pada perlakuan seed coating maupun penyemprotan inokulan PGPR. Respons yang lebih baik ditunjukkan oleh varietas lokal Kamba pada perlakuan seed coating KLE19 sedangkan varietas Inpari 42 memberikan respons lebih baik dengan penyemprotan inokulan KLE19 pada pengamatan jumlah anakan produktif, jumlah gabah per malai, jumlah total gabah per rumpun. Perlakuan seed coating maupun penyemprotan inokulan KLE19 memberikan respons yang lebih baik terhadap peningkatan produktivitas ketiga varietas padi.

Kata kunci : PGPR, Kamba, pemacu pertumbuhan, produktivitas padi

## ABSTRACT

**SRI SUDEWI.** PGPR from Local Aromatic Rice of Central Sulawesi: Their Characterization and Potential to Promote Growth and Productivity of Rice (Supervised by **Ambo Ala, Baharuddin and Muh. Farid BDR**).

This study aims to obtain and identify the morphological and molecular characteristics of microbial isolates that are Plant Growth Promoting Rizobacteria (PGPR) which have the potential to be biostimulant, biofertilizer, bioprotectant and potentially pathogenic to plants, as in vitro plant growth acceleration and productivity of rice plants in planta.

This study consisted of 5 stages, namely (1) isolation PGPR microbes from the rhizosphere of the local Kamba rice plant in Central Sulawesi (2) analyzing the ability of PGPR isolates which have the potential to be biostimulants, biofertilizers, bioprotectants and plant pathogens (3) to analyze the ability of PGPR isolates to promote growth. plant in vitro, (4) molecularly identifying PGPR isolates with 16S rRNA sequences, (5) analyzing the ability of PGPR isolates to increase the growth and productivity of rice in planta.

The results showed that there were 86 bacterial isolates from the local Kamba rice rhizosphere which were morphologically identified, all of the isolates were focused on Gram positive bacteria and catalase-producing enzymes. The best isolate that produced IAA was KLE25 (11,429 mg L<sup>-1</sup>), Gibberellin was KBK14 (4,584 mg L<sup>-1</sup>), nitrogen fixation KLE19 (0.39%), phosphate solvent RKGU4 (14,351 mg L<sup>-1</sup>), production of siderophore RKLE10 (12,038 mg L<sup>-1</sup>), 3 isolates of HCN were produced, namely KBU22, KLE19 and RKGU15. The selected superior isolates had no pathogenic potential for plants. KLE25 and KLE19 have the best PGPR characteristics as plant growth promoters. KBU22 and KLE19 isolates were identified molecularly as *Bacillus sp* and *Bacillus amyloliquefaciens*. There were differences in the variety response to the seed coating treatment and the PGPR inoculant spraying. A better response was shown by the local Kamba variety in the KLE19 seed coating treatment, while the Inpari 42 variety gave a better response by spraying the KLE19 inoculant on the observation of the number of productive tillers, the number of grains per panicle, the total number of grains per hill. Both seed coating and KLE19 inoculant spraying gave better responses to the increased productivity of the three rice varieties.

*Keywords: PGPR, Kamba, promote growth and productivity of rice*

## DAFTAR ISI

<b>PRAKATA</b>	<b>vi</b>
<b>ABSTRAK</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>ix</b>
<b>DAFTAR ISI</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR TABEL</b>	<b>xiv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b>	<b>xvii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	6
C. Tujuan Penelitian	7
D. Kegunaan Penelitian	8
E. Kebaruan Penelitian (Novelty)	8
F. Ruang Lingkup Penelitian	9
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	<b>11</b>
A. Tanaman Padi Lokal Aromatik	11
B. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)	14
C. Eksplorasi, Seleksi dan Karakterisasi Isolat PGPR	15
D. Peran dan Mekanisme PGPR berpotensi sebagai Biostimulan, Biofertilizer, dan Bioprotektan	17
1. PGPR berpotensi sebagai Biofertilizer	18
2. PGPR berpotensi sebagai Biostimulant	22
3. PGPR berpotensi sebagai Bioprotektan	26
E. Hipotesis	30
F. Kerangka Pikir Penelitian	31
G. Tahapan Penelitian Disertasi	32

<b>BAB III</b>	<b>METODE PENELITIAN</b>	33
<b>A.</b>	<b>Penelitian Tahap I: Isolasi, Karakterisasi Morfologi Isolat PGPR</b>	33
	<b>Tahapan Pelaksanaan Penelitian</b>	35
1.	Isolasi dan Koleksi Isolat PGPR	36
2.	Parameter Pengamatan	39
<b>B.</b>	<b>Penelitian Tahap II:</b>	40
1.	Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Biostimulan	43
2.	Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Biofertilizer	45
3.	Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Bioprotektan	46
4.	Analisis Isolat PGPR yang Berpotensi Pathogen terhadap Tanaman, Hewan dan Manusia	48
<b>C.</b>	<b>Penelitian Tahap III: Analisis Pemacuan Pertumbuhan Tanaman Secara <i>InVitro</i></b>	55
	Tahapan Pelaksanaan Penelitian	57
	Parameter Pengamatan	59
<b>D.</b>	<b>Penelitian Tahap IV: Analisis Identifikasi Secara Molekuler Berdasarkan Sequencing gen 16S rRNA Isolasi DNA pada bakteri</b>	60
1.	Amplifikasi DNA	62
2.	Analisis Sequen Gen 16S rRNA	62
<b>E.</b>	<b>Penelitian Tahap V: Analisis Kemampuan Isolat PGPR dalam Meningkatkan Pertumbuhan dan Produktivitas Padi secara in Planta</b>	64
1.	Tahapan Pelaksanaan Penelitian	66
2.	Parameter Pengamatan	70
<b>BAB IV</b>	<b>HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN</b>	76
<b>A.</b>	<b>Hasil Penelitian</b>	76
	<b>Penelitian Tahap I:</b>	76

1. Isolasi, Karakterisasi Morfologi Isolat PGPR	76
2. Uji Reaksi GraM	80
3. Uji Katalase	81
<b>Penelitian Tahap II</b>	83
1. Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Biostimulan	83
2. Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Biofertilizer	87
3. Analisis Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Bioprotektan	93
4. Analisis Isolat PGPR yang Berpotensi Pathogen Terhadap Tanaman	98
<b>Penelitian Tahap III</b>	103
Analisis Pemacuan Pertumbuhan Tanaman Secara In Vitro	103
<b>Penelitian Tahap IV</b>	108
1. Analisis Identifikasi Secara Molekuler Berdasarkan Sekuensing gen 16S rRNA	
2. Pohon Filogenetik	110
<b>Penelitian Tahap V: Analisis Kemampuan Isolat PGPR Dalam Meningkatkan Pertumbuhan Dan Produktivitas Tanaman Padi Secara in Planta</b>	114
1. Komponen Pertumbuhan	114
2. Komponen Hasil	127
3. Korelasi Antar komponen Pertumbuhan dan Komponen Hasil Padi	151
<b>B. Pembahasan</b>	155
1. Isolasi, Karakterisasi Morfologi Isolat PGPR	155
2. Kemampuan Isolat PGPR Berpotensi Sebagai Biostimulan, Biofertilizer, Bioprotektan dan Uji Patogenitas terhadap Tanaman	158
3. Pengaruh Aplikasi Isolat PGPR dalam Memacu Pertumbuhan Tanaman Secara <i>InVitro</i> .	174
4. Identifikasi Molekuler Berdasarkan Sekuensing gen 16S rRNA	177

5. Pengaruh Aplikasi Isolat PGPR terhadap Pertumbuhan Dan Produktivitas Padi serta Korelasi antar Komponen Pertumbuhan dan Hasil Padi	182
<b>BAB V. PENUTUP</b>	192
A. Kesimpulan	192
B. Saran	193
<b>DAFTAR PUSTAKA</b>	202
<b>LAMPIRAN</b>	226

## DAFTAR TABEL

<b>No</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1.	Karakterisasi secara morfologi isolat PGPR asal tanaman padi lokal aromatik Kamba	79
2	Hasil uji reaksi Gram dan reaksi Katalase isolat PGPR	80
3	Hasil pengujian secara kualitatif kemampuan tumbuh isolat PGPR pada Media Burk N-Bebas	88
4	Hasil uji reaksi hipersensitivitas isolat-isolat bakteri pada daun tembakau	99
5	Rekapitulasi isolat unggul isolat PGPR pada berbagai komponen pengujian	102
6	Rata-rata tinggi tanaman (cm) dan bobot segar (g) tanaman padi dengan perlakuan berbagai isolat PGPR	104
7	Hasil identifikasi similaritas pada analisa sekuens 16S rRNA isolat bakteri KBU22	109
8	Hasil identifikasi similaritas pada analisa sekuens 16S rRNA isolat bakteri KLE19	110
9	Rata-rata tinggi tanaman padi (cm) umur 16 MST pada berbagai varietas, seed coating dan penyemprotan inokulan bakteri	115
10	Rata-rata jumlah anakan padi umur 16 MST pada berbagai varietas, seed coating dan penyemprotan inokulan bakteri	116
11	Rata-rata berat segar tajuk (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	117
12	Rata-rata berat segar tajuk (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	118
13	Rata-rata berat segar akar (g) pada berbagai perlakuan varietas, seed coating dan penyemprotan inokulan bakteri	119
14	Rata-rata berat segar total tanaman (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	121
15	Rata-rata berat kering tajuk (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	122
16	Rata-rata berat kering tajuk (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	123

17	Rata-rata berat kering akar (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	124
18	Rata-rata berat kering total tanaman (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	125
19	Rata-rata berat kering total tanaman (g) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	126
20	Rata-rata Umur berbunga (hari setelah sebar) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	127
21	Rata-rata Umur berbunga (hari setelah sebar) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	128
22	Rata-rata jumlah anakan produktif (rumpun) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	130
23	Rata-rata jumlah anakan produktif (rumpun) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	131
24	Rata-rata panjang malai (cm) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	132
25	Rata-rata jumlah gabah per malai (butir) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	134
26	Rata-rata jumlah gabah per malai (butir) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	135
27	Rata-rata Jumlah total gabah per rumpun (butir) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	137
28	Rata-rata jumlah total gabah per rumpun (butir) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	138
29	Rata-rata bobot gabah per rumpun (g) (k.a 14%) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating.	140
30	Rata-rata bobot gabah per rumpun (g) (k.a 14%) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri.	141

31. Rata-rata Bobot 1000 butir (g) (k.a 14%) pada perlakuan varietas, seed coating dan penyemprotan inokulan bakteri	142
32. Rata-rata persentase gabah hampa (%) pada perlakuan interaksi antara seed coating dengan penyemprotan inokulan bakteri	144
33. Rata-rata Volume Akar (ml) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	145
34. Rata-rata Indeks luas daun (cm <sup>2</sup> ) pada berbagai perlakuan varietas padi	146
35. Rata-rata Produktivitas (Ton Ha <sup>-1</sup> ) (k.a 14%) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan seed coating	147
36. Rata-rata Produktivitas (Ton Ha <sup>-1</sup> ) (k.a 14%) pada perlakuan interaksi antara varietas padi dengan penyemprotan inokulan bakteri	148
37. Rata-rata Rasio (%) penambahan produktivitas pada tanaman padi dengan perlakuan berbagai jenis varietas, seed coating dan penyemprotan inokulan bakteri.	149
38. Matriks korelasi antar variabel pengamatan	154
39. Karakteristik PGPR isolat unggul pemacu pertumbuhan tanaman padi lokal aromatik dan hasil analisis sekuen gen 16S rRNA	179

## DAFTAR GAMBAR

<b>No</b>	<b>Teks</b>	<b>Halaman</b>
1	Kerangka Pikir Penelitian	31
2	Tahapan Penelitian	32
3	Persamaan garis kurva standar IAA	43
4	Persamaan garis kurva standar GA3	44
5	Persamaan garis kurva standar PO <sub>4</sub> (Titrisol)	46
6	Persamaan garis kurva standar natrium salisilat	47
7	Persamaan garis kurva standar 2,3 DHBA	47
8	Koloni tunggal hasil pengamatan secara morfologi isolat PGPR asal rizosfer tanaman padi lokal Kamba	78
9	Karakteristik secara morfologi isolat PGPR	78
10	Hasil uji reaksi Gram dengan menggunakan KOH 3%	82
11	Analisis kualitatif produksi IAA oleh isolat PGPR	84
12	Analisis kuantitatif tingkat konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat PGPR	85
13	Analisis kualitatif produksi GA3 dengan perubahan warna menjadi kecoklatan setelah diinkubasi selama 75 menit	86
14	Analisis kuantitatif tingkat konsentrasi GA3 yang dihasilkan oleh isolat PGPR	87
15	Kemampuan tumbuh isolat PGPR terhadap kandungan Nitrogen total (%)	89
16	Analisis kualitatif pelarutan fosfat oleh isolat PGPR	91
17	Analisis kualitatif pelarutan fosfat oleh isolat PGPR	92
18	Analisis kuantitatif tingkat konsentrasi PO <sub>4</sub> yang dihasilkan oleh isolat PGPR dengan spektrofotometer (OD = 693 nm)	93
19	Analisis kualitatif produksi siderofor oleh isolat PGPR	94
20	Analisis kuantitatif kemampuan isolat PGPR memproduksi siderofor tipe katekol dan salisilat	95
21	Isolat bakteri yang memproduksi HCN dan Isolat bakteri yang tidak memproduksi HCN	97
22	Hasil uji reaksi hipersensitivitas isolat bakteri pada daun tembakau	99
23	Tinggi tanaman padi lokal aromatik pengamatan 14 hari	105

	setelah tanam (HST) pada pengujian pemacuan pertumbuhan secara <i>in vitro</i> dengan berbagai perlakuan isolat PGPR	
24	Rata-rata panjang akar (cm) dan bobot kering (g) tanaman padi pada perlakuan berbagai isolat PGPR	106
25	Rata-rata pertumbuhan tanaman padi umur 14 HST tanpa perlakuan (Kontrol) dengan berbagai perlakuan isolat PGPR	107
26	Dendogram hasil analisis pohon filogenetik isolat bakteri KBU22 berdasarkan sekuens gen 16S ribosom RNA	111
27	Dendogram hasil analisis pohon filogenetik isolat bakteri KLE19 berdasarkan sekuens gen 16S ribosom RNA	112

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang**

Tanaman padi merupakan tanaman penghasil beras, bahan pangan terpenting sebagai sumber karbohidrat bagi 50% populasi dunia. Di Indonesia, beras dijadikan sebagai sumber kebutuhan pokok bagi 90% penduduknya. Kebutuhan beras setiap tahun terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya jumlah penduduk. Jumlah penduduk Indonesia pada tahun 2019 sebanyak 267 juta jiwa dan akan mencapai 319 juta jiwa pada tahun 2045 (BPS, 2020).

Kondisi ini berdampak terhadap meningkatnya permintaan bahan makanan, utamanya beras sebagai makanan pokok masyarakat Indonesia. Di sisi lain produksi pertanian menghadapi tantangan yang serius seperti : faktor iklim, frekuensi bencana kekeringan dan banjir yang sering terjadi, perubahan intensitas curah hujan yang ekstrim, terjadinya degradasi kesuburan tanah, serangan hama dan penyakit, kontaminasi lingkungan yang mengganggu karena ketergantungan petani terhadap penggunaan input yang tinggi.

Upaya peningkatan produksi dapat dilakukan dengan pengelolaan lahan produksi pertanian yang mengarah pada sistem yang holistik dan terintegrasi secara berkelanjutan, agar tercipta kestabilan produksi dan

agroekosistem yang seimbang. Namun, upaya tersebut sulit untuk dilakukan karena pengelolaan lahan secara intensif dengan penggunaan senyawa kimia yang berlebihan dan pengaplikasian pestisida secara terus menerus masih terus dilakukan. Akibatnya terjadi penurunan sifat kesuburan tanah.

Prinsip keberlanjutan seperti biodiversitas yang terjaga, kekhasan ekologi lokal serta keseimbangan agroekosistem telah diterapkan oleh masyarakat tani Lembah Bada Kabupaten Poso. Sistem budidaya padi sawah yang diterapkan oleh masyarakat masih bersifat tradisional secara turun temurun, dan menurut adat istiadat setempat.

Sistem budidaya dilakukan dengan menggunakan benih yang diperoleh dari hasil panen sebelumnya dan pada umumnya petani setempat tidak menggunakan input sintetis, namun menggunakan input internal dari serasah tanaman. Walaupun sebagian petani juga sudah menggunakan input sintetis dengan dosis rendah. Cara budidaya yang mereka lakukan tersebut berwawasan ekologi, tetapi produktivitas yang dicapai rata-rata relatif rendah.

Ekosistem pertanian yang dikelola dengan input sintetis yang rendah tersebut, akan menciptakan keanekaragaman hayati yang melimpah, salah satunya mikroorganisme tanah. Populasi mikroba tanah ditentukan oleh kualitas vegetasi tumbuhan yang berada di atasnya serta sifat fisik dan kimia tanah sementara aktivitas mikroba tertentu dapat meningkatkan ketersediaan dan serapan hara tanaman. Oleh karena itu

mikroba tanah tersebut berperan terhadap pertumbuhan dan produktivitas tanaman.

Ekosistem alam Lembah Bada yang dikelola secara tradisional dapat menciptakan aktivitas mikroorganisme dan populasi mikroba yang melimpah. Sebagian besar mikroba tanah memiliki peran yang menguntungkan bagi tanaman seperti merombak limbah organik, penghasil fitohormon pemacu pertumbuhan, fiksasi nitrogen, pelarut fosfat sehingga membantu proses penyerapan unsur hara dan sebagian juga dapat berfungsi sebagai biokontrol patogen.

Padi lokal aromatik Kamba yang dibudidayakan masyarakat setempat dapat tumbuh baik dan mampu beradaptasi dengan berbagai kondisi stress lingkungan. Hal ini diduga selain karena faktor genetik, juga karena faktor lingkungan terutama keberadaan mikroba tanah yang melimpah pada daerah tersebut. Berdasarkan hal itu, sehingga peneliti tertarik untuk mengkaji PGPR yang diisolasi dari pertanaman padi lokal Kamba Lembah Bada.

Pemanfaatan mikroorganisme (rizobakteri) yang dieksplorasi dari rizosfer padi lokal merupakan salah satu upaya untuk mengatasi terhambatnya pertumbuhan tanaman karena terjadi penurunan sifat kesuburan tanah akibat pengelolaan lahan produksi dengan senyawa kimia secara intensif. Rizobakteri memiliki kemampuan mengkoloni rizosfer secara agresif. Beberapa jenis rizobakteri mampu berperan ganda sebagai biostimulant, biofertilizer dan biokontrol sehingga dapat memacu

pertumbuhan dan produktivitas tanaman (Etesami & Maheshwari, 2018; Chittora et al., 2020; Mhatre et al., 2019; Djaya et al., 2019).

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah kelompok bakteri yang hidup secara saprofit pada daerah rizosfer atau daerah perakaran serta berperan dalam memacu pertumbuhan tanaman. Kemampuan PGPR menghasilkan fitohormon, dapat meningkatkan penyerapan hara dari tanah oleh akar.

Peningkatan efisiensi pemupukan dengan kemampuannya memfiksasi nitrogen bebas dari udara dan melarutkan fosfat yang terikat, akan menciptakan lingkungan tanaman yang toleransi terhadap stress (salinitas maupun kekeringan). Selain itu, PGPR mampu memproteksi dari pengaruh patogen seperti virus, jamur, serangga dan hama (Tiwari et al., 2016; Chaitanya & Meenu, 2015).

Akhir-akhir ini penelitian mengenai pemanfaatan bakteri rizosfer asal tanaman padi telah banyak dilakukan, namun isolasi bakteri yang berasal dari rizosfer padi lokal aromatik masih sangat jarang ditemukan. Beberapa hasil penelitian terbaru dilaporkan bahwa aplikasi rizobakteri *Paenibacillus lentimorbus* dan *Bacillus amyloliquefaciens* SN13 secara tunggal dapat meningkatkan pertumbuhan bibit padi pada kondisi nutrisi yang tidak optimal (Bisht & Chauhan, 2020).

Selain itu, Xiao et al., 2020; Wang et al., 2019 dan Kumar et al., 2019 melaporkan bahwa inokulasi PGPR penghasil hormon IAA dan Gibberelin mampu memacu pertumbuhan tanaman padi dilahan sawah

yang terkontaminasi *Arsenic* (As) dan *Cadmium* (Cd) maupun di lahan yang salin. Pemupukan alternatif dengan PGPR mampu meningkatkan pertumbuhan, status fisiologis serta produktivitas tanaman (Pagnani et al., 2018). Kaitannya dengan proteksi tanaman, aplikasi PGPR efektif menekan penyakit bercak daun coklat pada tanaman padi (Prabhukarthikeyan et al., 2019).

Berdasarkan uraian yang telah dikemukakan maka sangat perlu dilakukan penelitian mengenai PGPR asal padi lokal aromatik Sulawesi Tengah, karakterisasi dan potensinya sebagai biostimulan, biofertilizer, dan bioprotektan sebagai pemacu pertumbuhan dan produktivitas padi sehingga dapat dijadikan dasar untuk evaluasi potensi penerapan isolat PGPR di masa depan.

## B. Rumusan Masalah

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

1. Apakah terdapat isolat mikroba yang berperan sebagai Plant Growth Promoting Rizobacteria (PGPR) yang memiliki perbedaan karakter secara morfologi dan fisiologi pada beberapa lokasi lahan sawah padi lokal aromatik Sulawesi Tengah?
2. Apakah isolat PGPR yang ditemukan berpotensi sebagai biostimulant, biofertilizer, bioprotektan serta berpotensi patogen terhadap tanaman?
3. Apakah isolat PGPR memiliki kemampuan untuk memacu pertumbuhan tanaman secara in vitro pada padi lokal aromatik Sulawesi Tengah?
4. Adakah similaritas karakter fisiologis isolat mikroba spesifik bersifat PGPR yang ditemukan, mempunyai persentase kemiripan dengan data spesies pada GenBank?
5. Apakah isolat PGPR memiliki kemampuan untuk memacu pertumbuhan dan produktivitas padi secara in planta?

### **C. Tujuan Penelitian**

1. Untuk memperoleh dan mengidentifikasi sifat karakteristik morfologi dan fisiologi isolat mikroba yang bersifat Plant Growth Promoting Rizobacteria (PGPR) pada beberapa lokasi lahan sawah padi lokal aromatik di Sulawesi Tengah?
2. Untuk menguji kemampuan isolat PGPR yang berpotensi biostimulant, biofertilizer, bioprotektan dan yang berpotensi patogen terhadap tanaman?
3. Untuk menguji kemampuan isolat PGPR dalam pemacuan pertumbuhan tanaman secara in vitro pada padi lokal aromatik Sulawesi Tengah.
4. Untuk mengidentifikasi secara molekuler isolat PGPR unggul yang mempunyai persentase kemiripan dengan data spesies pada GenBank?
5. Untuk menguji kemampuan isolat PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas tanaman padi secara in planta.

#### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian secara praktis dapat bermanfaat untuk mendapatkan isolat PGPR yang berpotensi sebagai biostimulan, biofertilizer dan bioprotektan, dan memiliki kemampuan dalam memacu pertumbuhan dan produktivitas padi. Secara teoritis diharapkan melalui hasil penelitian ini akan memberikan informasi dan kontribusi sebagai bahan kajian lanjut dalam pemanfaatan isolat PGPR sebagai upaya peningkatan produktivitas padi.

#### **E. Kebaruan Penelitian (Novelty)**

Kebaruan dari penelitian ini yaitu diperoleh beberapa isolat PGPR yang diisolasi dari rhizosfer padi lokal aromatik Sulawesi Tengah. Isolat PGPR memiliki potensi sebagai biofertilizer, biostimulan, bioprotektan dan berperan dalam memacu pertumbuhan dan meningkatkan produktivitas padi.

## F. Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian didasarkan pada upaya untuk meningkatkan produktivitas tanaman padi serta efektivitas isolat PGPR dalam memacu pertumbuhan tanaman. Adapun ruang lingkup dari penelitian ini yaitu :

1. Tahap pertama: mengisolasi isolat PGPR dari rhizosfer tanaman padi lokal Kamba asal Sulawesi Tengah. Penapisan ini dilakukan untuk mendapatkan isolat-isolat bakteri yang memiliki karakter morfologis sebagai isolat PGPR.
2. Tahap kedua: menganalisis kemampuan isolat bakteri potensinya sebagai biostimulan (memiliki kemampuan menghasilkan IAA dan GA3), potensinya sebagai biofertilizer (kemampuan memfiksasi N<sub>2</sub> dan pelarutan phosphat) serta potensinya sebagai bioprotektan (kemampuan memproduksi siderofor dan hydrogen sianida) dan pengujian patogenitas sebagai landasan kajian tahap berikutnya. Tujuan dari tahap ini adalah untuk mendapatkan isolat bakteri yang berpotensi sebagai biostimulan, biofertilizer, bioprotektan dan isolat yang tidak berpotensi patogen terhadap tanaman.
3. Tahap ketiga: menganalisis kemampuan isolat PGPR dalam pemacuan pertumbuhan tanaman secara in vitro yang diformulasikan dalam media cair dengan tujuan untuk mendapatkan isolat bakteri yang dapat memacu pertumbuhan padi.

4. Tahap keempat: mengidentifikasi secara molekuler isolat yang bersifat PGPR dengan sekuens 16S rRNA dan menggunakan pohon filogenetik sehingga dapat diketahui persentase kemiripan dengan spesies dari data GenBank.
5. Tahap kelima: menganalisis kemampuan isolat PGPR untuk memacu pertumbuhan dan produktivitas padi secara in planta. Penelitian bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat PGPR untuk memacu pertumbuhan dan meningkatkan produktivitas padi lokal maupun padi unggul.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Padi Lokal Aromatik**

Jenis tanaman padi yang telah ditanam di suatu daerah dan lingkungan tertentu selama bertahun-tahun sehingga telah beradaptasi dengan lingkungan setempat seperti tingkat kesuburan tanah, iklim, cara budidaya serta hama dan penyakit setempat disebut dengan Padi lokal atau varietas padi lokal asli (landrace).

Pada umumnya padi lokal dibudidayakan di daerah dataran tinggi. Padi yang ditanam di ketinggian berbeda akan menghasilkan mutu dan aroma yang berbeda. Aroma beras merupakan indikator untuk klasifikasi beras aromatik dan tidak aromatik. Aroma setelah beras dimasak diberi nilai sifat tertinggi yang diinginkan oleh konsumen yang kemudian diikuti oleh rasa. Aroma spesial yang dikeluarkan saat beras dimasak dapat dikategorikan sebagai beras aromatik.

Sejauh ini, masih banyak varietas padi aromatik dan non aromatik ditanam oleh petani secara tradisional. Kualitas biji dan aroma yang menyenangkan dari varietas lokal aromatik membuat harga jualnya premium di pasar lokal maupun International (Verma & Srivastav, 2017).

Padi aromatik Indonesia memiliki tekstur nasi yang lembut (pulen), memiliki umur panjang (panen lebih dari 125 hari), dibudidayakan di lahan

sawah dataran tinggi sama halnya dengan varietas padi Kamba di Sulawesi Tengah. Lingkungan pada dataran tinggi berpotensi untuk mempertahankan senyawa aroma yang terkandung dalam padi aromatik. Padi aromatik mengandung senyawa volatil yang memberikan ekspresi aroma pada berasnya (Singh et al., 2000).

Bhattacharjee *et al.*, (2002) menyatakan bahwa senyawa *2 acetyl-1-pyrroline* merupakan karakteristik aroma pada varietas padi aromatik yang merupakan senyawa volatil utama pada daun pandan (*Pandanus amaryllifolius*). Komponen *2acetyl-1-pyrroline* paling banyak mengandung gugus alcohol, aldehid, keton dan asam serta komponen lainnya.

Kamba merupakan salah satu tanaman padi lokal yang dimiliki Sulawesi Tengah yang berasal dari dataran Lore (Lembah Bada, Napu dan Lindu). Penyebarannya berada pada dua kabupaten, yaitu Kabupaten Poso dan Sigi, dengan produksi yang masih tergolong rendah (<1,5 t/ha GKP) (Padang et al., 2012).

Hal ini disebabkan oleh sistem budidaya yang dilakukan masih bersifat tradisional. Lamanya umur panen yaitu 5-6 bulan menyebabkan pengembangan padi kamba sangat terbatas dan dikhawatirkan akan punah dan tergeser oleh adanya varietas unggul baru yang umurnya sangat genjah hingga genjah.

Meskipun umurnya relatif panjang, pada umumnya petani masih membudidayakan varietas padi lokal ini karena telah beradaptasi pada lokasi spesifik dan telah diusahakan secara turun temurun bahkan

mempunyai nilai ekonomi bagi petani (Putra et al., 2014). Beras Kamba memiliki rasa yang pulen, warna yang putih bersih, aroma yang khas, dan memiliki daya simpan yang baik setelah dimasak menjadi nasi. Hal ini sejalan dengan hasil penelitian (Arzam et al., 2017) bahwa beras Kamba memiliki skor aroma tertinggi dibandingkan dengan beras lainnya dengan metode pengujian beras dimasak.

Menurut Rohaeni & Hastini, (2015) padi lokal yang masih bertahan sampai saat ini merupakan kultivar-kultivar hasil seleksi alam selama puluhan bahkan ratusan tahun sehingga umumnya memiliki karakter-karakter baik yang disukai masyarakat seperti rasa nasi yang enak dan pulen. Kelemahan padi lokal jika dibandingkan dengan padi varietas unggul baru (VUB) umumnya adalah potensi hasil yang rendah serta profil tanaman yang kurang ideal.

Berdasarkan perbedaan karakter morfologi dan wilayah adaptasi agroekosistem, *Oryza sativa* dibedakan menjadi tiga subspecies yaitu a) Subspecies Indica, umumnya tersebar di Negara-negara tropis. b) Subspecies Japonica, menyebar di Negara-negara subtropis seperti Jepang, Korea, Eropa, Afrika, Australia, Amerika Utara dan Amerika Selatan. c) Subspecies Javanica atau sub japonica, japonica tropis, atau indo-japonica, menyebar di Jawa, Bali, dan Lombok. Padi lokal kamba dikategorikan sebagai padi indica (*Oryza sativa subsp. indica*).

## **B. Plant Growth Promotion Rhizobacteria (PGPR)**

Mikroorganisme tanah (bakteri, cendawan) yang hidup di daerah rhizosfer memberikan beragam keuntungan pada tanaman selama siklus pertumbuhan dan perkembangannya, sehingga dalam hal ini terjadi hubungan simbiosis antara keduanya (Raza *et al.*, 2016).

Bakteri tanah yang mengkolonisasi rhizosfer (lapisan tanah tipis 1-2 mm disekitar daerah perakaran) yang secara langsung maupun tidak langsung berperan dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman melalui produksi dan sekresi berbagai bahan kimia disebut dengan Rhizobakteria pemacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promotion Rhizobacteria* (PGPR) (Ahemad & Kibret, 2014).

Pengaruh langsung PGPR didasarkan atas kemampuannya menyediakan dan memobilisasi atau memfasilitasi penyerapan berbagai unsur hara dalam tanah serta mensintesis dan mengubah konsentrasi berbagai fitohormon pemacu tumbuh. Kemampuan menekan aktivitas patogen dengan cara menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit seperti antibiotik dan siderophore merupakan pengaruh tidak langsung dari PGPR (Zablotowicz *et al.*, 1991; Kloepper *et al.*, 1999; Glick, 1995).

Menurut Vacheron *et al.*, 2013 PGPR dapat dibedakan atas dua tipe utama. Rhizobakteria pemacu tumbuh tanaman ekstraseluler (ePGPR) yang mengkoloni (di daerah permukaan akar/rizoplant) atau di ruang antar sel dari korteks akar dan Rhizobakteria pemacu tumbuh

tanaman intraseluler (iPGPR) yang hidup khusus pada bagian dalam struktur nodular sel akar.

Sebagian besar kelompok bakteri gram-negatif teridentifikasi sebagai PGPR, diantaranya genus *Pseudomonas* dan beberapa dari genus *Serratia* dengan jumlah strain yang paling banyak (Nico et al., 2010). Genus *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Acetobacter*, *Burkholderia*, dan *Bacillus* juga teridentifikasi sebagai PGPR (Glick, 1995). Walaupun sebagian besar kelompok bakteri gram-positif seperti *Bacillus* tidak tergolong pengkoloni akar, beberapa strain tertentu dari genus ini ada yang mampu melakukannya, sehingga bisa digolongkan sebagai PGPR.

Kemajuan nyata yang diperoleh dari penelitian mengenai pemanfaatan PGPR bagi tanaman. Hal ini telah meningkatkan antusias peneliti untuk mempopulerkan PGPR sebagai agen penting dalam sistem produksi pertanian yang ramah lingkungan.

Penggunaan PGPR akan mengurangi pemakaian senyawa kimia sintetis berlebihan, baik sebagai pemacu pertumbuhan (biostimulan), dalam hal penyediaan hara tanaman (biofertilizers) maupun dalam pengendalian patogen tular tanah (bioprotektan). PGPR terlibat dalam berbagai aktivitas biotik ekosistem tanah sehingga mendukung pertanian yang berkelanjutan untuk produksi tanaman (Gupta et al., 2015).

### **C. Eksplorasi, Seleksi dan Karakterisasi Isolat PGPR**

Eksplorasi suatu ekosistem untuk mendapatkan mikroba yang memiliki potensi meningkatkan pertumbuhan tanaman perlu dilakukan.

Mikroba hasil eksplorasi dari ekosistem yang kaya akan keanekaragaman hayatinya, memiliki potensi mikroba yang mampu menambat N<sub>2</sub>, melarutkan P dan menghasilkan hormon tumbuh tanaman, atau senyawa antagonis.

Sturz & Nowak, (2000) mengemukakan bahwa dalam mengeksplorasi mikroba perlu suatu strategi, yang dimulai dari kultivasi dan purifikasi mikroba yang bersifat menguntungkan. Tahap selanjutnya adalah menguji kemampuannya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dan mengaplikasikan pada tanaman sedini mungkin agar populasi mikroba mendominasi pada jaringan tanaman yang diinokulasikan. Eksplorasi mikroba potensial yang berperan dalam pertumbuhan tanaman masih terus dikembangkan sebagai kajian ekologi, fisiologi dan interaksinya dengan tanaman. Kegiatan tersebut merupakan upaya untuk mendukung pertanian yang berkelanjutan.

Faktor lingkungan berpengaruh terhadap keberadaan mikroba. Beberapa faktor lingkungan seperti tipe tanah, kelembaban tanah, pH dan suhu, serta umur dan kondisi tanaman mempengaruhi efek rizosfer (Reisberg *et al.*, 2013).

Seleksi strain PGPR dapat dilakukan dengan teknik skrining massal. Seleksi dapat dilakukan berdasarkan karakter fisiologis dan karakter biokimia. Uji homologi DNA dan RNA juga dianggap sebagai suatu cara yang paling diandalkan untuk karakterisasi strain PGPR. Selain itu seleksi juga dilakukan atas dasar ciri-ciri yang diketahui terkait dengan

PGPR, misalnya, kolonisasi akar, kegiatan produksi ACC deaminase, produksi antibiotik dan produksi siderophore.

PGPR dikarakterisasi berdasarkan sifat khas, yaitu: (1) Mikroba tersebut harus mampu membentuk koloni pada permukaan akar, (2) Mikroba harus dapat bertahan, memperbanyak diri dan berkompetisi dengan mikroorganisme lain, (3) Mikroba tersebut mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman inang (Ahemad & Kibret, 2014).

#### **D. Peran dan Mekanisme PGPR berpotensi sebagai Biostimulan, Biofertilizer, dan Bioprotektan**

Peran mikroorganisme dalam pertumbuhan tanaman, penyediaan hara dan aktivitas biokontrol sangat kompleks. Mikroorganisme tanah yang menguntungkan tersebut mengkoloni akar dan daerah sekitar perakaran sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman dengan berbagai mekanisme yang berbeda.

PGPR dapat digunakan dalam program intensifikasi pertanian karena merupakan bakteri di sekitar perakaran dan hidup berkoloni menyelimuti akar. PGPR berfungsi dalam memacu pertumbuhan tanaman yaitu sebagai penyedia hara dengan menambat  $N_2$  (Glick, 2012), melarutkan hara P yang terikat di dalam tanah (Ahemad & Khan, 2012), mengatur konsentrasi berbagai fitohormon dengan memproduksi *indole-3-acetic acid* (IAA) dalam zona perakaran, menghasilkan metabolit anti patogen seperti siderophore dan Hidrogen cianida (HCN) (Liu et al., 2016) . PGPR juga mampu menghasilkan enzim *Aaminocyclopropane*

*Carboxylic Acid* deaminase (ACC deaminase) sebagai pengendali sintetis hormon yang berlebihan.

Mekanisme PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman terbagi menjadi dua yaitu mekanisme secara langsung dan mekanisme secara tidak langsung. PGPR mempunyai pengaruh secara langsung dalam penyerapan hara atau meningkatkan ketersediaan hara dengan menambat N<sub>2</sub>, mineralisasi senyawa organik, pelarutan unsur hara fosfat, dan produksi fitohormon (Bhardwaj et al., 2014).

Mekanisme PGPR secara tidak langsung dapat menekan dan mengendalikan pengaruh fitopatogen yang dapat merusak tanaman. PGPR memproduksi senyawa metabolit yang dapat meningkatkan ketahanan alami tanaman terhadap berbagai cekaman lingkungan biotik dan abiotik. Peranan PGPR dalam mekanisme ini meliputi produksi enzim hidrolitik (kitinase, selulase, protease, dll), dan sebagai respon terhadap patogen tanaman dengan menghasilkan komponen antibiotik, yaitu senyawa siderophore, VOC, EPSs, dll (Singh & Jha, 2015).

### **1. PGPR berpotensi sebagai Biofertilizer**

Penggunaan pupuk kimia yang melebihi dosis anjuran menjadi masalah dalam pertanian berkelanjutan terutama masalah lingkungan. Beberapa masalah dapat dikurangi dengan menggunakan PGPR (Etesami & Alikhani, 2016), yang bermanfaat, ramah secara ekologis, alami, efektif dan efisien (Singh, 2013).

PGPR sebagai biofertilizer berfungsi sebagai penyedia hara bagi tanaman dengan kemampuannya memfiksasi nitrogen bebas dari udara (Glick, 2012), serta melarutkan hara P yang terikat di dalam tanah (Ahemad & Khan, 2012). Biofertilizer (pupuk hayati) adalah media yang menggunakan bahan dasar mikroba yang digunakan untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman.

Kandungan nitrogen di atmosfer sekitar 78% tetapi tidak dapat dimanfaatkan langsung oleh tanaman. Ketersediaan kadar nitrogen di dalam tanah bervariasi. Penelitian yang dilakukan oleh (Patti *et al.*, 2013) menunjukkan kandungan N total tanah masih rendah berkisar 0,06-0,17% pada beberapa daerah. Salah satu usaha yang dapat mengubah N dari bentuk tidak tersedia menjadi bentuk yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman adalah melalui proses penambatan nitrogen biologis (*biological nitrogen fixation*).

Fiksasi nitrogen adalah salah satu mekanisme utama yang digunakan oleh PGPR untuk memacu pertumbuhan tanaman. Fiksasi nitrogen biologis dilakukan baik oleh mikroorganisme nonsimbiotik yang dapat berdiri sendiri atau bakteri-bakteri tertentu yang hidup secara simbiosis dengan tanaman tingkat tinggi. Proses fiksasi nitrogen biologis akan mengubah N<sub>2</sub> udara menjadi amonia karena adanya enzim nitrogenase. Enzim tersebut hanya dimiliki oleh mikroba tertentu misalnya pada bakteri penambat nitrogen yang hidup bebas (non-simbiotik) (Kurniaty *et al.*, 2013).

Beberapa PGPR yang hidup secara simbiotik yaitu strain *Rhizobium sp.*, *Azoarcus sp.*, *Beijerinckia sp.*, *Pantoea agglomerans*, dan *K. pneumonia*. Jenis PGPR ini dilaporkan dapat memperbaiki N<sub>2</sub> dalam tanah yang direduksi dari N<sub>2</sub> bebas di udara (Ahemad & Kibret, 2014).

Beberapa hasil penelitian mengenai penggunaan pupuk hayati telah dilakukan. Hasil penelitian Aryanto *et al* (2015) dengan menggunakan inokulan bakteri *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Azospirillum sp.* dan *Azotobacter sp.* pada penanaman padi sawah dan padi gogo dapat mengurangi 50% dosis pupuk anorganik serta meningkatkan kualitas tanah masam.

Selain fiksasi nitrogen bebas yang merupakan mekanisme secara langsung oleh PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. PGPR juga berperan dalam melarutkan hara P yang terikat di dalam tanah. Fosfat adalah nutrisi paling penting kedua yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang cukup untuk pertumbuhan optimal.

Fosfat (P) memainkan peran penting pada hampir semua proses metabolisme utama, termasuk transfer energi, respirasi, biosintesis makromolekul, serta fotosintesis. Namun ketersediaannya terbatas di dalam tanah, sehingga sulit bagi tanaman untuk menyerapnya. Sekitar 95-99% fosfat dalam bentuk tidak larut, tidak bergerak, atau bahkan bergerak lambat didalam tanah, dan diendapkan. Tanaman menyerap fosfat dalam bentuk ion ortofosfat ( $H_2PO_4^{-2}$ ) dan ion ortofosfat sekunder ( $HPO_4^{-2}$ ) (Anand *et al.*, 2016).

Bakteri pelarut fosfat (BPF) merupakan bakteri yang berperan dalam kesuburan tanah. Bakteri ini mampu melarutkan fosfat dengan mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti *oksalat*, *suksinat*, *fumarat*, dan *malat*. Asam-asam organik ini akan bereaksi dengan bahan pengikat fosfat, seperti  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ ,  $Ca^{2+}$ , atau  $Mg^{2+}$  membentuk khelat organik yang stabil sehingga mampu membebaskan ion fosfat terikat dan dapat dimanfaatkan oleh tanaman (Tripti et al., 2012).

Widawati & Suliasih, (2006) menyatakan populasi BPF di daerah rhizosfer mencapai 10-100 kali lebih banyak dibandingkan daerah non rhizosfer. Daerah akar mengekskresikan bahan organik yang dapat mencukupi dan merangsang pertumbuhan bakteri. Sejalan dengan hasil penelitian Vessey, (2003) bahwa sebagian besar BPF terkonsentrasi di daerah rhizosfer, dimana bakteri pelarut fosfat dikenal lebih aktif secara metabolik daripada yang diisolasi dari sumber lain atau non rhizosfer.

Pemanfaatan fosfat tanah yang kurang efisien oleh tanaman dapat diatasi dengan cara memanfaatkan bakteri pelarut P sebagai pupuk hayati. Penggunaan bakteri pelarut P sebagai pupuk hayati mempunyai keunggulan antara lain hemat energi, tidak mencemari lingkungan, mampu membantu meningkatkan kelarutan P yang terjerap, menghalangi terjerapnya P dari pupuk oleh unsur-unsur penjerap, serta mengurangi toksisitas  $Al^{3+}$ ,  $Fe^{3+}$ , dan  $Mn^{3+}$  terhadap tanaman, khususnya di daerah masam. Menurut (Van Loon, 2007) fungsi pemberian PGPR adalah

melarutkan dan meningkatkan ketersediaan unsur P dalam tanah. Unsur hara P bermanfaat untuk memperbaiki pembungaan, pembentukan buah, dan pembentukan benih serta dapat mengurangi kerontokan buah.

Beberapa PGPR yang dapat melarutkan fosfat yaitu genus *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Beijerinckia*, *Burkholderia*, *Enterobacter*, *Microbacterium*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, *Rhizobium*, *Mesorhizobium*, *Flavobacterium*, *Rhodococcus*, dan *Serratia* sehingga dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman (Oteino et al., 2015). Strain genera bakteri *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Enterobacter* adalah pelarut fosfat yang paling kuat (Fu et al., 2016).

Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa penelitian telah menunjukkan peran PGPR dalam fiksasi nitrogen dan pelarut P yang efisien. Isolat bakteri PGPR *Bacillus* (R7) *Azotobacter* (RS7) dan *Pseudomonas* (RS1) berpotensi sebagai biofertilizer karena dapat memfiksasi nitrogen bebas dan melarutkan fosfat sebagai penyedia unsur hara bagi tanaman melon (Singh et al., 2017). Isolat *Mesorhizobium ciceri* dan *Mesorhizobium mediterraneum*, yang diperoleh dari nodul kacang buncis, merupakan pelarut fosfat yang baik (Parmar & Sindhu, 2013).

## **2. PGPR berpotensi sebagai Biostimulant**

Senyawa yang diperlukan untuk membantu pertumbuhan tanaman, mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman disebut dengan hormon tumbuhan (fitohormon). (Barnawal et al., 2019) fitohormon adalah

substansi organik dan regulator pertumbuhan tanaman yang dapat memacu, menghambat atau memodifikasi pertumbuhan dan perkembangan tanaman pada konsentrasi rendah (<1 mM).

Selain diproduksi oleh tanaman, isolat PGPR juga mampu menghasilkan fitohormon yang dapat berpotensi sebagai biostimulant. Kelompok umum fitohormon yang dihasilkan dari isolat PGPR pada tanaman yaitu auksin, gibberelin, sitokinin, asam absisat, etilen, dan steroid brassino. Fitohormon ini dapat memacu pertumbuhan sel akar sehingga dapat memproduksi akar lateral dan rambut akar yang berlebih yang dapat digunakan untuk meningkatkan kemampuan akar dalam menyerap nutrisi dan air (Sureshbabu *et al.*, 2016).

Sejalan dengan itu produksi IAA oleh isolat PGPR menyebabkan terjadinya perubahan modifikasi arsitektur sistem perakaran. Isolat PGPR mampu meningkatkan jumlah ujung akar dan luas permukaan akar, sehingga dapat meningkatkan penyerapan air dan nutrisi sehingga dapat mengatasi masalah defisit air (Etesami *et al.*, 2015; Kaushal & Wani, 2016).

Fitohormon secara alami meliputi tiga kelompok senyawa utama, yaitu auksin, gibberelin dan sitokinin yang merupakan aktivator pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Shruti *et al.*, 2013). Yasmin *et al.*, (2009) mengelompokkan fitohormon menjadi auksin, gibberelin, sitokinin dan senyawa-senyawa mirip etilen.

Fitohormon yang dihasilkan oleh PGPR berperan sebagai sintesis molekul untuk pertumbuhan dan perkembangan akar tanaman. Fitohormon yang dihasilkan ini dijadikan parameter apakah PGPR dapat berfungsi dengan baik atau tidak (Sheikhian & Bina, 2016).

Bakteri PGPR umumnya menghasilkan fitohormon seperti auksin, sitokinin, dan gibberellin. Auksin paling utama dan paling penting pada tanaman. Hal ini karena auksin atau *Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan hormon utama pada tanaman yang mengontrol berbagai proses fisiologis. Diantaranya pertumbuhan dan pembelahan sel, diferensiasi jaringan, inisiasi pembentukan akar, dominansi apikal, pembungaan, pematangan buah, senescence dan respon terhadap cahaya dan gravitasi (tropistic responses).

Produksi fitohormon auksin, etilen, gibberelin, sitokinin dan asam absisat oleh isolat PGPR telah dilaporkan dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman dalam kondisi lingkungan normal dan kondisi lingkungan yang mendapat cekaman (Etesami et al., 2015; Ma et al., 2011; Ullah et al., 2015).

Kaushal & Wani, (2016) dan (Tsukanova et al., 2017) juga melaporkan bahwa fitohormon IAA, GA, CK, dan ABA yang dihasilkan oleh isolat PGPR dapat meningkatkan ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan dan cekaman lingkungan yang berbeda.

Sebagian besar PGPR dapat mensintesis IAA. Spesies PGPR pensintesis IAA meliputi *Pseudomonas sp.* *Bacillus sp.* *Klebsiella sp.*

*Azospirillum sp.*, *Enterobacter* dan *Serratia sp.* Tanaman menghasilkan eksudat akar untuk menarik mikroba tanah dalam mengkoloni rhizosfer tanaman. Eksudat akar merupakan sumber alami asam amino L-Triptofan (L-Trp) bagi mikroflora di rhizosfer dan senyawa ini meningkatkan kemampuan biosintesis auksin oleh mikroba.

Pada bakteri, triptofan (Trp) merupakan prekursor utama dalam biosintesis IAA. Triptofan merupakan salah satu asam amino aromatik yang dihasilkan dari senyawa berkarbon 7, yakni *3-deoksi-7-fosfo-D-asam arabinoheptulosonat* yang merupakan hasil kondensasi dari *D-eritrosa-4-fosfat* (senyawa berkarbon 4) dan *fosfo-enol-piruvat* (senyawa berkarbon 3) (Quiroz-villareal et al., 2012).

Auksin disintesis dari triptofan pada tanaman, melalui reaksi oksidatif deaminasi atau dekarboksilasi. Dalam mikroorganisme tanah diketahui terdapat tiga jalur pembentukan IAA yang juga diinisiasi oleh prekursor triptofan, beberapa bakteri memiliki lebih dari satu jalur dalam mensintesis IAA.

Fitohormon lain yang mengatur pertumbuhan dan perkembangan tanaman adalah GA3 atau gibberelin. Gibberelin mengendalikan pemanjangan batang dan mengatur proses reproduksi pada tumbuhan. Apabila suhu rendah maka kandungan gibberelin pada beberapa spesies tumbuhan, justru akan memacu pembungaan dan perkecambahan biji.

Peranan gibberelin juga berkaitan dengan proses stratifikasi dan vernalisasi (merangsang pembungaan ketika suhu sangat dingin).

Senyawa ini menghambat pertumbuhan daun dan penebaran buah, memacu sintesis enzim *alpha-amylase* dan enzim lain yang membantu pembentukan lapisan aleuron pada biji barley.

### 3. PGPR berpotensi sebagai Bioprotektan

Pengaruh PGPR secara tidak langsung dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman terjadi melalui penekanan fitopatogen yang dilakukan melalui mekanisme yang berbeda. PGPR sebagai bioprotektan, memberikan efek antagonis terhadap patogen tanaman melalui beberapa cara yaitu produksi antibiotik, siderofor, enzim kitinase, produksi hidrogen sianida (HCN), kompetisi sumber nutrisi, menginduksi ketahanan tanaman secara sistemik (Anzuay et al., 2015).

Kemampuan PGPR dalam memproduksi siderofor yang mengkelat Fe, menjadikan Fe tidak tersedia bagi patogen. Kemampuan dalam mensintesis metabolit anti jamur seperti antibiotik, dinding sel jamur – lysis enzim dan juga hidrogen sianida, yang menekan pertumbuhan patogen jamur. PGPR mampu bersaing dengan patogen dalam hal penyerapan nutrisi dan unsur hara dan mempunyai tempat khusus dalam perakaran tanaman (Sorensen et al., 2001). Siderofor pengkelat Fe, antibiotik, dan HCN diproduksi oleh beberapa PGPR dan telah dikaitkan dengan kemampuannya mereduksi patogen tanaman serta rizobakteria yang bersifat toksik.

Siderofor (siderophore) adalah molekul organik kecil atau senyawa pengkelat Fe<sup>3+</sup> spesifik yang dihasilkan oleh mikroorganisme yang

tumbuh pada keadaan cekaman lingkungan akibat  $Fe^{3+}$  rendah sehingga dapat meningkatkan kapasitas penyerapan besi oleh mikroorganisme (Saha et al., 2016).

Siderofor berasal dari dua kata yaitu *sideros* bahasa Yunani yang berarti besi dan *phores* yang artinya pembawa adalah agen pengkhelat logam yang terutama berfungsi untuk mengkhelat besi-besi tidak larut dari habitat yang berbeda. Menurut Glick & Pasternak (2003) kelompok utama siderofor adalah *hidroksamat*, *katekolat*, *karboksilat*, dan *etilendiamina*. Umumnya siderofor tipe *hidroksamat* merupakan ciri khas untuk cendawan, *katekolat* untuk bakteri, dan *karboksilat* untuk tumbuhan.

Kemampuan bakteri penghasil siderofor dalam mengikat  $Fe^{3+}$  merupakan pesaing terhadap mikroorganisme lain. Mekanisme kerja siderofor terjadi melalui perkembangan yang cepat dari bakteri yang mengkolonisasi akar tanaman. PGPR mampu memindahkan besi di daerah permukaan sehingga tercipta kondisi yang sesuai bagi pertumbuhan akar dan tidak sesuai bagi pertumbuhan mikroba rizoplant (Saha et al., 2016).

Bakteri penghasil siderofor juga dapat menginduksi ketahanan tanaman. Mekanisme ketahanan tanaman terjadi karena adanya perbaikan lingkungan tumbuh dari adanya interaksi mikroba dengan tanaman (Dey et al., 2004). Beberapa bakteri penghasil siderofor yang telah digunakan dalam bidang pertanian diantaranya *Pseudomonas*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida* (David et al., 2020;

Jiang et al., 2019; Hussein & Joo, 2017), *Bacillus* sp. (Jangir et al., 2018; Karthika et al., 2020).

Produksi Siderofor oleh PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman pada kondisi Fe<sup>3+</sup> terbatas yaitu dengan memasok langsung besi untuk dimanfaatkan oleh tanaman. Isolat PGPR dapat mengkhelat besi dari lingkungan sekitarnya agar tidak dimanfaatkan oleh fitopatogen sehingga mengurangi daya saing antara tanaman dengan fitopatogen (Tank et al., 2012).

*Pseudomonas putida*, yang merupakan isolat PGPR, memanfaatkan siderofor yang diproduksi oleh mikroba lain di daerah rhizosfer, untuk memenuhi kebutuhan zat besi bagi pertumbuhannya (Rathore, 2014). PGPR yang berpotensi menghasilkan siderofor merupakan aset penting yang bermanfaat dalam menyediakan zat besi yang dibutuhkan oleh tanaman.

Kemampuan mikroba menghasilkan siderofor berimplikasi pada pengendalian mikroba patogen. Beberapa jenis rizobakteri telah diidentifikasi mampu menghasilkan siderofor. *Pseudomonas fluorescens* B10 yang memproduksi *yellow-green fluorescent siderophores* atau *pseudobactin* yang kemudian terbukti dapat menghambat perkembangan fungi patogen *Erwinia caratovora* penyebab busuk pada kentang. Interaksi antara bagian vegetatif benih kentang dengan *Bacillus* spp. dapat meningkatkan hasil tanaman kentang dengan menghasilkan siderofor dan antibiotik. Hal ini menunjukkan sifat antagonisme terhadap penyakit

*scorpus* dan penyakit kanker batang hitam pada kentang yang disebabkan oleh *Rhizoctonia solani* (Tamura et al., 2013).

Beberapa hasil penelitian tentang bakteri yang dapat memproduksi siderofor juga telah banyak dilaporkan diantaranya bakteri *Azotobacter* (Dewedar et al., 2018), *Bacillus* (Sinha et al., 2019) *Pseudomonas* (Kousser et al., 2019), *Azospirillum* (Vijayalakshmi et al., 2019), *Enterobacter* (Kumar et al., 2017) ; *Rhizobium* (Ferreira et al., 2019) *Paenibacillus* (Chen et al., 2016; Wang et al., 2019; Liu et al., 2017).

Penggunaan bakteri penghasil siderofor yang dikombinasikan dengan pupuk hayati lainnya berpotensi dalam meningkatkan produksi tanaman dan dapat digunakan sebagai agens biokontrol yang sangat menjanjikan dalam mendukung pertanian berkelanjutan yang ramah secara ekologis.

Senyawa Hydrogen cyanide (HCN) merupakan senyawa metabolit sekunder yang umumnya dihasilkan oleh beberapa mikroorganisme dan bersifat toksik terhadap cendawan patogen (Agbodjato et al., 2015). Hidrogen Sianida salah satu senyawa yang sangat beracun. Anion CN<sup>-</sup> bersifat isoelektronik jika berikatan dengan molekul nitrogen dan karbon monoksida.

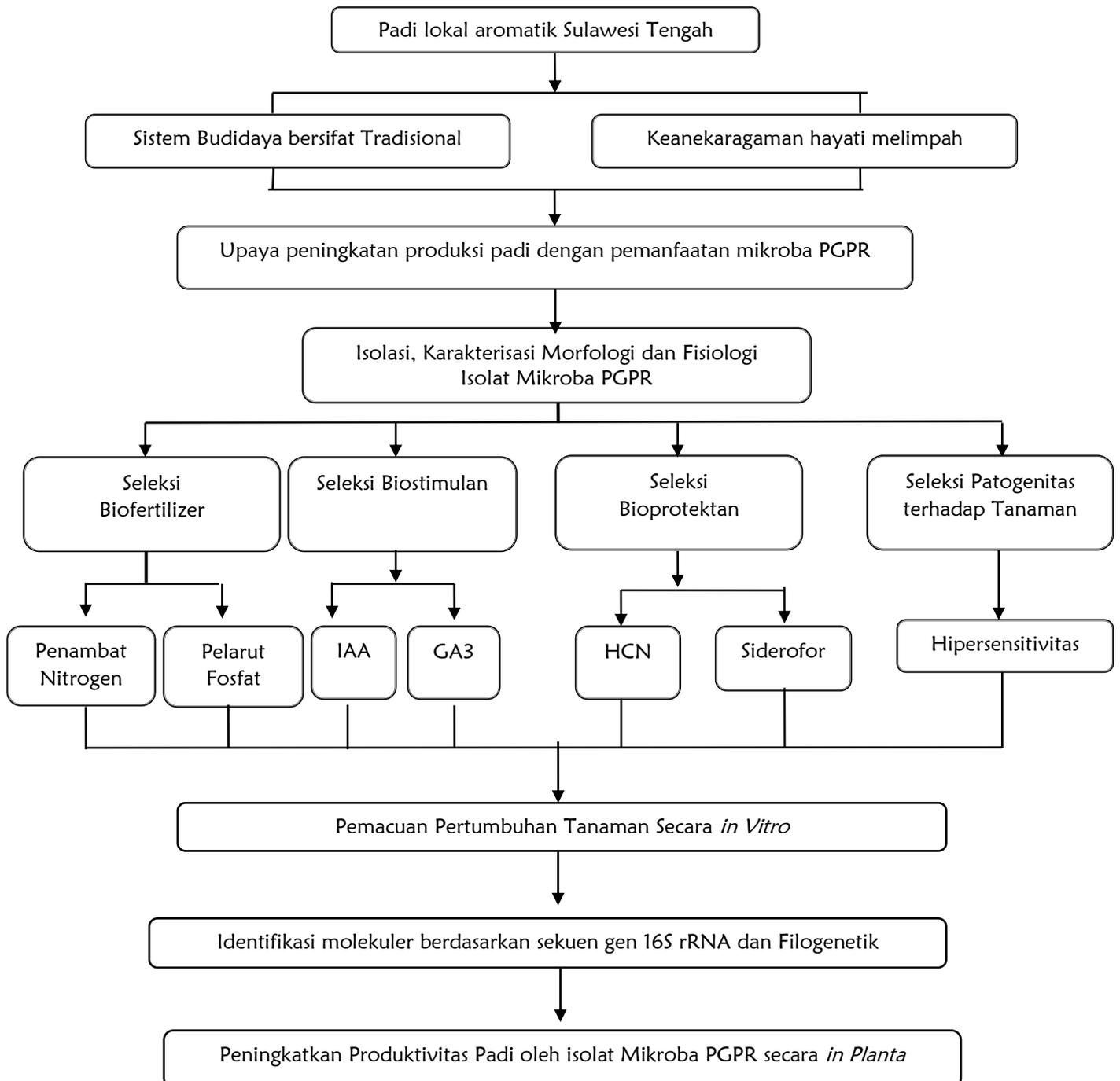
HCN bekerja dengan cara menghambat kerja enzim yang memiliki kofaktor berupa ion logam seperti Cu<sup>2+</sup> pada sitokrom C oksidase. Umumnya bakteri yang mampu memproduksi HCN adalah *Pseudomonas* yang memproduksi HCN di endorizosfer dengan cara mengubah glikosida

sianogenik yang terdapat dalam akar tanaman. Hasil penelitian (Rijavec & Lapanje, 2016) bahwa HCN yang diproduksi oleh rhizobakteri dapat meningkatkan ketersediaan fosfat dalam tanah sehingga dapat dimanfaatkan untuk rhizobakteri itu sendiri maupun tanaman utama. Agbodjato et al., (2015) melaporkan bahwa semua strain *Bacillus* sp 100% dapat menghasilkan hidrogen sianida yang diisolasi dari rhizosfer tanaman padi.

### **E. Hipotesis**

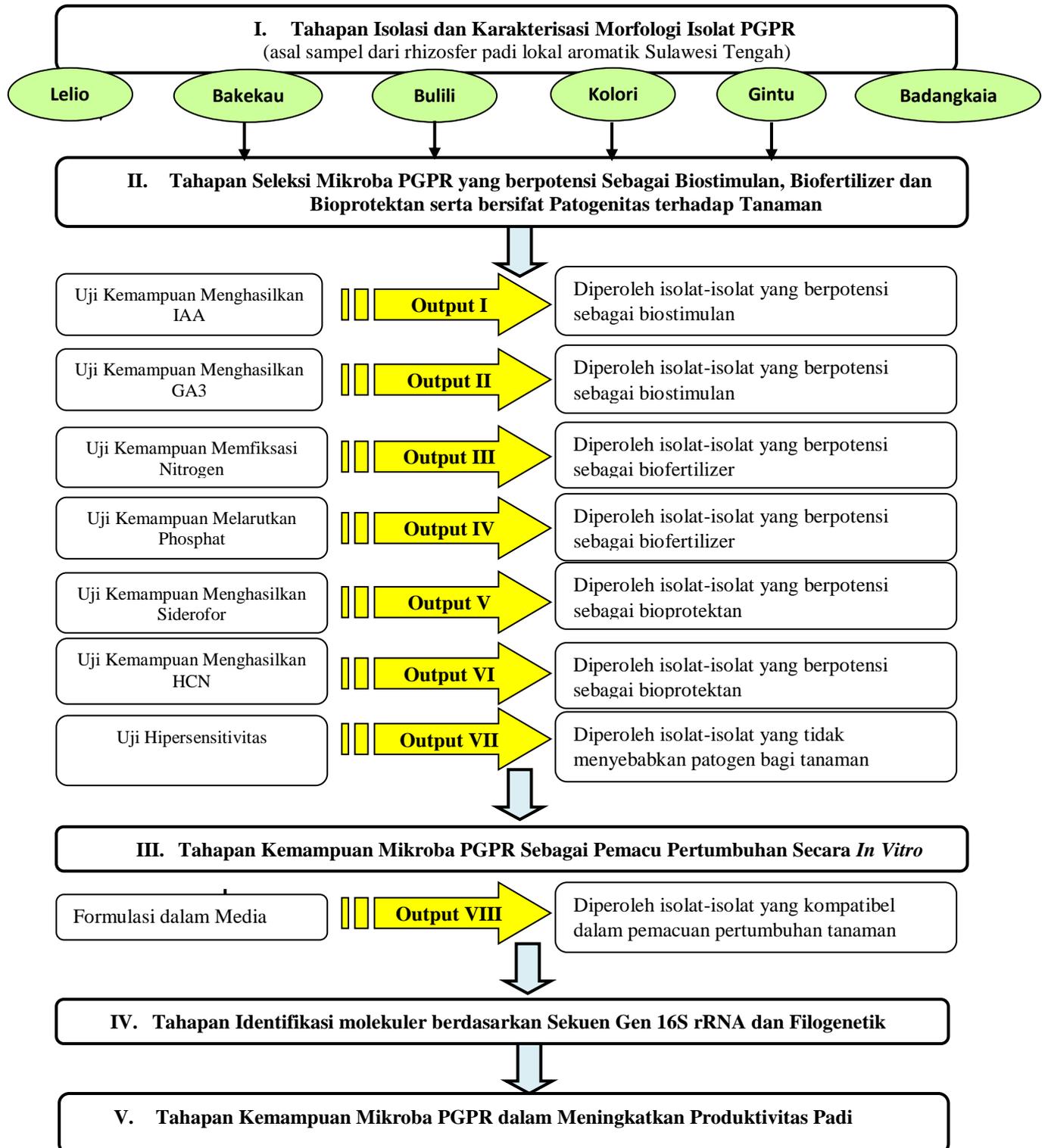
1. Terdapat isolat mikroba yang memiliki perbedaan karakterisasi secara morfologi, fisiologi bersifat Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) pada beberapa lokasi lahan sawah padi lokal aromatik Sulawesi Tengah.
2. Terdapat isolat mikroba asal rhizosfer padi lokal aromatik Sulawesi Tengah yang berpotensi sebagai biostimulant, biofertilizer, bioprotektan dan isolat PGPR yang aman bagi tanaman.
3. Terdapat isolat PGPR yang mampu memacu pertumbuhan tanaman secara in vitro padi lokal aromatik Sulawesi Tengah.
4. Terdapat isolat mikroba yang teridentifikasi secara molekuler yang tidak memiliki similaritas spesies pada GenBank.
5. Terdapat interaksi antara varietas padi dengan isolat PGPR yang digunakan sebagai seed coating maupun penyemprotan yang dapat memacu pertumbuhan dan produktivitas padi.

## F. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 1. Kerangka Pikir Penelitian

## G. Tahapan Penelitian Disertasi



Gambar 2. Tahapan Penelitian