

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI POTENSIAL
PELARUT ZN DARI RHIZOSFER DAN PENGARUHNYA
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG**

ISOLATION AND IDENTIFICATION OF POTENTIAL ZN
SOLUBILIZING BACTERIA FROM RHIZOSPHERE
AND EFFECT ON MAIZE PLANT GROWTH

ANDI IRMADAMAYANTI



**PROGRAM MAGISTER AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLATION AND IDENTIFICATION OF POTENTIAL ZN
SOLUBILIZING BACTERIA FROM RHIZOSPHERE
AND EFFECT ON MAIZE PLANT GROWTH**

**ANDI IRMADAMAYANTI
G012202009**



**PROGRAM MAGISTER AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI POTENSIAL
PELARUT ZN DARI RHIZOSFER DAN PENGARUHNYA
TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG**

Tesis

sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar magister

Program Studi Agroteknologi

Disusun dan diajukan oleh

**ANDI IRMADAMAYANTI
G012202009**

kepada

**PROGRAM MAGISTER AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

LEMBAR PENGESAHAN

**ISOLASI DAN IDENTIFIKASI BAKTERI POTENSIAL PELARUT ZN
DARI RHIZOSFER DAN PENGARUHNYA TERHADAP
PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG**

Disusun dan diajukan oleh:

ANDI IRMADAMAYANTI

G012202009

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam
rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi
Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin
pada tanggal 10 Agustus 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dr. Ir. Muh. Jayadi, M.P
NIP. 19590926 198601 1 001


Dr. Ir. Katriani Mantja, M.P
NIP. 19660421 199103 2 004

Ketua Program Studi
Magister Agroteknologi,

Dekan Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin,


Dr. Ir. Muh. Riadi, M.P
NIP. 19560822 198601 1 001


Prof. Dr. Ir. Salehke, M.Sc
NIP. 19631231 198811 1 005



PERNYATAAN KEASLIAN TESIS DAN PELIMPAHAN HAK CIPTA

Dengan ini saya menyatakan bahwa, tesis berjudul "Isolasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Pelarut Zn Dari Rhizosfer dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung" adalah benar karya saya dengan arahan dari komisi pembimbing Dr. Ir. Muh. Jayadi, MP sebagai Pembimbing Utama dan Dr. Ir. Katriani Mantja, MP sebagai Pembimbing Pendamping. Karya ilmiah ini belum diajukan dan tidak sedang diajukan dalam bentuk apa pun kepada perguruan tinggi mana pun. Sumber informasi yang berasal atau dikutip dari karya yang diterbitkan maupun tidak diterbitkan dari penulis lain telah disebutkan dalam teks dan dicantumkan dalam Daftar Pustaka tesis ini. Sebagian dari isi tesis ini telah dipublikasikan di Jurnal IOP Proceeding (Andi Irmadamayanti et al,) sebagai artikel dengan judul "Isolation of potential Zn solubilizing bacteria from corn rhizosphere".

Dengan ini saya melimpahkan hak cipta dari karya tulis saya berupa tesis ini kepada Universitas Hasanuddin.

Makassar, 07 Agustus 2023



Andi Irmadamayanti
G012202009

Ucapan Terima Kasih

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Tuhan Yang Maha Esa. Karena berkat, rahmat dan karunianya, sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan tesis tepat waktu. Dalam menyusun tesis ini, penulis tidak luput dari berbagai kesulitan dan hambatan, namun atas bantuan dan dorongan dari berbagai pihak akhirnya penulisan tesis ini dapat terselesaikan. Penulis menyadari bahwa ada orang-orang yang berjasa dibalik selesainya tesis ini. Tidak ada persembahan terbaik yang dapat penulis berikan selain rasa ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah banyak membantu penulis. Oleh karena itu, pada kesempatan ini penulis dengan tulus menyampaikan ucapan terima kasih secara khusus kepada

1. Dr. Ir. Muh. Jayadi, MP selaku pembimbing utama dan Dr. Ir. Katriani Mantja, MP selaku pembimbing pendamping atas segala keikhlasan, ketulusan, kesabarannya dalam mengarahkan, memberikan bimbingan, bantuan, motivasi dan saran kepada penulis mulai dari perencanaan penelitian hingga penyusunan tesis.
2. Prof. Ir. Rinaldi Sjahril, M.Agr., Ph.D., Dr. Ir. Muh. Riadi, MP dan Dr. Ir. Syafruddin, MP selaku tim penguji yang telah banyak memberikan saran dan masukan yang bermanfaat untuk perbaikan dan penyempurnaan tesis.
3. Pimpinan Badan Riset Inovasi Nasional dan Pimpinan Badan Standardisasi Instrumen Pertanian, Kementerian Pertanian (ex. Badan Litbang Pertanian) atas kesempatan tugas belajar yang diberikan kepada penulis.
4. Segenap Dosen Fakultas Pertanian Program Studi Magister Agroteknologi Universitas Hasanuddin yang telah memberikan ilmunya dan pengalaman sebagai pengetahuan baru kepada penulis dan semua staf Tata Usaha Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin yang telah banyak membantu penulis dalam segala urusan administrasi.
5. Ir. Syafruddin, MP, Nurasih Djaenuddin, SP, M.Si, Erwin Najamuddin, SP, M.Si, Ernawati Jaya, SP, M.Si, Suriani, MP, Kiki, Ibu Beda, Pak Haya yang telah banyak membantu penulis selama pelaksanaan penelitian hingga penyusunan tesis
6. Orang tua tercinta (Andi Makmur dan Emmy Wati), saudara saudara penulis (Andi Marwa Swasti, A.Md., Andi Herman Budianto, S. Kom., Andi Andriani, Andi Eka Mariana, A.Md, Andi Haeria Alfiani, SE, Titi Hardianti Muzakkir, S.Kep

dan Asrul, SE) yang tak pernah bosan mengingatkan, menguatkan, membantu, memotivasi, memberikan doa dan dukungan kepada penulis selama melaksanakan tugas belajar hingga penyusunan tesis.

7. Teman-teman seperjuangan Magister Agroteknologi (Priming 2020-2) yang telah banyak memberikan semangat, motivasi dan saran kepada penulis dalam penyusunan tesis.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkankan satu per satu, terima kasih atas segala bantuan dan dukungannya.

Akhir kata, penulis berharap semoga tesis ini dapat bermanfaat bagi semua pihak dan semoga amal baik yang telah diberikan mendapatkan balasan dari Tuhan Yang Maha Esa.

Makassar, 07 Agustus 2023

Andi Irmadamayanti

ABSTRAK

ANDI IRMADAMAYANTI. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Potensial Pelarut Zn dari Rhizosfer dan Pengaruhnya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (dibimbing oleh Muh. Jayadi dan Katriani Mantja).*

Unsur hara Zn diperlukan oleh tanaman dalam jumlah sedikit tetapi mutlak harus ada. Jika jumlahnya tidak mencukupi, tanaman akan mengalami cekaman fisiologis yang diakibatkan oleh tidak berfungsinya beberapa sistem enzim dan fungsi metabolik. Ketersediaan Zn yang rendah dapat menghambat produktivitas tanaman. Untuk mengatasi kekurangan Zn dalam tanah, tidak dapat dilakukan hanya dengan pupuk kimia karena sebagian dari Zn yang digunakan diubah menjadi bentuk yang tidak tersedia karena pembentukan karbonat, oksida atau sulfat dan dapat merusak lingkungan. Oleh karena itu, alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan bakteri rhizosfer yang berpotensi untuk melarutkan bentuk tetap Zn yang ada dalam tanah menjadi bentuk yang tersedia secara hayati untuk memenuhi kebutuhan Zn tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi isolat bakteri rhizosfer yang potensial sebagai pelarut Zn dan mengetahui pengaruh bakteri pelarut Zn terhadap pertumbuhan tanaman jagung. Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2022 sampai dengan bulan April 2023 di Balai Penelitian Tanaman Serealia Maros. Isolat bakteri yang diperoleh dari isolasi rhizosfer tanaman jagung diuji pada berbagai senyawa Zn tidak larut secara terpisah dari tiga sumber yaitu ZnO, ZnCO₃ dan Zn₃(PO₄)₂. Potensi pelarutan dinilai secara kualitatif maupun kuantitatif. Berdasarkan hasil penelitian dari 56 isolat yang diperoleh terdapat 6 isolat bakteri rhizosfer yang berpotensi terhadap pelarutan Zn yaitu isolat Bn.1.7, Bn.1.11, Btg.1.5, Btg.1.6, Btg.2.3 dan Jpt.3.7. Isolat bakteri teridentifikasi sebagai *Bacillus* sp, *Lysinibacillus* sp strain DGS20, *Serratia* sp stain EB340, *Serratia marcescens* strain NPK2-2-20, *Citrobacter freundii* strain KSSN 2.2 dan *Klebsiella variicola* strain 145-a blue. Respon terhadap pertumbuhan tanaman, isolat bakteri Btg.2.3 (*Bacillus*, sp) menunjukkan nilai tertinggi terhadap parameter tinggi tanaman, jumlah daun, tinggi letak tongkol, berat segar dan berat kering tanaman.

Kata kunci : Isolasi, identifikasi, pelarutan Zn, bakteri pelarut Zn, tanaman jagung

ABSTRACT

ANDI IRMADAMAYANTI. *Isolation and Identification of Potential Zn Solubilizing Bacteria from Rhizosphere and its Effect on Maize Plant Growth* (supervised by Muh. Jayadi and Katriani Mantja).

The nutrient Zn is required by plants in small amounts but absolutely must be present. If the amount is insufficient, plants will experience physiological stress caused by the malfunctioning of several enzyme systems and metabolic functions. Low Zn availability can delay plant productivity. To overcome Zn deficiency in soil, it cannot be done only with chemical fertilizers because some of the Zn used is converted into unavailable forms due to the formation of carbonates, oxides or sulfates and can damage the environment. Therefore, an alternative that can be done is to utilize rhizosphere bacteria that have the potential to dissolve the fixed form of Zn present in the soil into a bioavailable form to meet the Zn needs of plants. This study aims to isolate and identify isolates of rhizosphere bacteria that have the potential to dissolve Zn and determine the effect of Zn solubilizing bacteria on corn plant growth. The research was conducted from September 2022 to April 2023 at the Research Center for Cereal Crops in Maros. Bacterial isolates obtained from rhizosphere isolation of maize plants were tested on various insoluble Zn compounds separately from three sources namely ZnO, ZnCO₃ and Zn₃(PO₄)₂. Solubilization potential was assessed qualitatively and quantitatively. Based on the results of the study of 56 isolates obtained, there are 6 isolates of rhizosphere bacteria that have the potential to dissolve Zn, namely isolates Bn.1.7, Bn.1.11, Btg.1.5, Btg.1.6, Btg.2.3 and Jpt.3.7. Bacterial isolates were identified as *Bacillus* sp, *Lysinibacillus* sp strain DGS20, *Serratia* sp stain EB340, *Serratia marcescens* strain NPK2-2-20, *Citrobacter freundii* strain KSSN 2.2 and *Klebsiella variicola* strain 145-a blue. Response to plant growth, bacterial isolate Btg.2.3 (*Bacillus*, sp) showed the highest value on the parameters of plant height, number of leaves, cob height, fresh weight and dry weight of plants.

Keywords: Isolation, identification, Zn solubilization, Zn solubilizing bacteria, maize

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	ii
HALAMAN PENGANTAR.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN	iv
PERNYATAAN KEASLIAN TESIS	v
UCAPAN TERIMA KASIH	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan Penelitian	4
1.4. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1. Bakteri Rhizosfer	5
2.2. Bakteri Pelarut Zn	7
2.3. Isolasi Bakteri	8
2.4. Identifikasi Bakteri	8
2.5. Unsur Hara Mikro	12
2.6. Kerangka Pikir	13
BAB III. METODE PENELITIAN	13
3.1. Tempat dan Waktu	13
3.2. Bahan dan Alat	13
3.3. Metodologi Penelitian	13
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	19
4.1. Hasil	19
4.2. Pembahasan	38

BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	47
5.1. Kesimpulan	47
5.2. Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN	55

DAFTAR TABEL

No.	Teks	Halaman
1.	Hasil Isolasi Bakteri Berdasarkan Lokasi Pengambilan Sampel	19
2.	Kepadatan Koloni Bakteri	19
3.	Identifikasi Morfologi Isolat Bakteri	20
4.	Hasil Uji Kemampuan Pelarutan Isolat Bakteri	22
5.	Diameter Zona Bening dan Diameter Koloni Isolat Bakteri	23
6.	Indek Pelarutan Isolat Bakteri	25
7.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Btg.1.5	30
8.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Bn.1.7	30
9.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Btg.2.3	30
10.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Bn.1.11	31
11.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Btg.1.6	31
12.	Hasil Identifikasi Similaritas sekuens isolat Jpt.3.7	32
13.	Rata-Rata Tinggi (cm) Tanaman Jagung 60 HST	35
14.	Rata-Rata Jumlah Daun (helai) Tanaman Jagung 60 HST	36
15.	Rata-Rata Tinggi Letak Tongkol (cm) Tanaman Jagung 60 HST	36
16.	Rata-Rata Berat Segar (g) Tanaman Jagung 60 HST	37
17.	Rata-Rata Berat Kering (g) Tanaman Jagung 60 HST	38

DAFTAR GAMBAR

No.	Teks	Halaman
1.	Isolat bakteri yang membentuk zona bening pada media ZnO, ZnCO ₃ dan Zn ₃ (PO ₄) ₂	27
2.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri pada Media ZnO	27
3.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri pada Media ZnCO ₃	28
4.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri pada Media Zn ₃ (PO ₄) ₂	29
5.	Hasil isolasi DNA pada gel agarosa 0,8%	29
6.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Bn.1.7	32
7.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Btg.1.5	32
8.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Btg. Btg.2.3	33
9.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Bn.1.11	33
10.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Btg.1.6	34
11.	Analisis Pohon Filogenetik Isolat Jpt.3.7	34

DAFTAR LAMPIRAN

No.	Teks	Halaman
Tabel Lampiran		
1.	Diameter Zona Bening dan Koloni Isolat Bakteri Pada Media ZnO	56
2.	Diameter Zona Bening dan Koloni Isolat Bakteri Pada Media ZnCO ₃	58
3.	Diameter Zona Bening dan Koloni Isolat Bakteri Pada Media Zn ₃ (PO ₄) ₂	60
4.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri Pada Hari ke 1	62
5.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri Pada Hari ke 3	62
6.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri Pada Hari ke 5	63
7.	Konsentrasi Pelarutan Isolat Bakteri Pada Hari ke 10	63
8a.	Rata-Rata Tinggi Tanaman Jagung 60 HST	64
8b.	Analisis Sidik Ragam Tinggi Tanaman Jagung 60 HST	64
9a.	Rata-Rata Jumlah Daun Tanaman Jagung 60 HST	65
9b.	Analisis Sidik Ragam Jumlah Daun Tanaman Jagung 60 HST ..	65
10a.	Rata-Rata Tinggi Letak Tongkol Tanaman Jagung 60 HST	66
10b.	Analisis Sidik Ragam Tinggi Letak Tongkol Tanaman Jagung 60 HST	66
11a.	Rata-Rata Berat Segar Tanaman Jagung 60 HST	67
11b.	Analisis Sidik Ragam Berat Segar Tanaman Jagung 60 HST ...	67
12a.	Rata-Rata Berat Kering Tanaman Jagung 60 HST	68
12b.	Analisis Sidik Ragam Berat Kering Tanaman Jagung 60 HST ..	68
Gambar		
1.	Hasil Blast Isolat Btg.1.5	69
2.	Hasil Blast Isolat Bn.1.7	69
3.	Hasil Blast Isolat Btg.2.3	70
4.	Hasil Blast Isolat Bn.1.11	70

5.	Hasil Blast Isolat Btg.1.6	71
6.	Hasil Blast Isolat Jpt.3.7	71
7.	Pembuatan Media Zn	72
8.	Aplikasi Isolat Bakteri Pada Benih	72
9.	Pertumbuhan Tanaman Jagung 10 HST dan 20 HST	72
10.	Pertumbuhan Tanaman Jagung 30 HST dan 60 HST	72
11.	Denah Percobaan	73

BAB I

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Komoditi tanaman pangan memiliki peranan pokok sebagai pemenuh kebutuhan pangan, pakan dan industri dalam negeri yang setiap tahunnya cenderung meningkat. Seiring dengan pertambahan jumlah penduduk dan berkembangnya industri pangan dan pakan, dari sisi ketahanan pangan nasional fungsinya menjadi sangat penting dan strategis. Tanaman jagung di Indonesia merupakan komoditas pangan terpenting kedua setelah tanaman padi. Jagung menempati posisi penting dalam perekonomian nasional karena merupakan sumber karbohidrat (Akil dan Hadijah, 2011). Di beberapa daerah di Indonesia jagung dijadikan sebagai bahan pangan utama, dan juga sebagai bahan pakan ternak dan industri (Yusuf, 2009). Menurut Panikkai *et al.*, (2019) bahwa komoditas jagung mempunyai fungsi multiguna (4F), yaitu untuk pangan (food), pakan (feed), bahan bakar (fuel), dan bahan baku industri (fiber).

Dalam budidaya tanaman, agar diperoleh produksi yang optimal, pemupukan berimbang harus selalu diperhatikan karena keterkaitan satu unsur dengan unsur lainnya sangat erat. Pemupukan merupakan usaha untuk menggantikan unsur hara yang telah hilang dari tanah karena diserap oleh tanaman (Ridwan, 2001). Pupuk N, P dan K merupakan pupuk yang sering digunakan, karena termasuk unsur hara makro yang relatif banyak diperlukan oleh tanaman. Sedangkan unsur hara mikro meskipun dibutuhkan dalam jumlah kecil, kekurangannya dapat menyebabkan produktivitas yang rendah, akibatnya produksi tanaman menjadi menurun seiring dengan waktu.

Diantara unsur hara mikro, Zn dianggap salah satu yang penting (Iqbal *et al.*, 2010). Unsur hara Zn di dalam tanaman memegang peran kunci sebagai unsur penyusun struktur atau kofaktor pengatur banyak jenis enzim yang berbeda pada banyak jalur biokimia yang penting (Gandhi, 2016). Untuk meningkatkan ketersediaan Zn, pemupukan tanaman dengan Zn merupakan strategi jangka pendek yang saling melengkapi, yang diperlukan untuk membangun kolam Zn untuk

penyerapan atau translokasi. Akan tetapi, aplikasi pupuk kimia seringkali memiliki efisiensi penggunaan yang rendah dimana tanaman dapat menyerap hanya sebagian kecil Zn yang ada dalam bentuk terlarut didalam tanah. Oleh karena itu, penurunan efisiensi penggunaan pupuk kimia Zn akan masih menjadi masalah, terutama dalam jangka panjang.

Defisiensi Zn dalam bidang pertanian tidak hanya mempengaruhi produktivitas tetapi juga kualitas nutrisi tanaman yang menyebabkan masalah gizi dan kesehatan manusia terutama pada anak-anak (Zhang *et al.*, 2017). Defisiensi Zn pada tanaman tidak hanya disebabkan karena tingkat Zn yang rendah didalam tanah tetapi lebih karena kelarutan Zn yang rendah dalam tanah dan konversi Zn dalam bentuk yang tidak larut (Gontia *et al.*, 2017).

Kualitas biologi tanah meningkat dengan adanya mikroorganisme tanah terutama pada rhizosfer. Salah satu indikator kesuburan tanah adalah adanya bakteri rhizosfer. Menurut Irfan (2014), keragaman jumlah dan jenis mikroorganisme tanah dapat mengindikasikan kesuburan tanah, disertai dengan ketersediaan bahan organik dalam tanah, kesesuaian suhu tanah, dan kecukupan air, serta kesesuaian kondisi ekologi tanah. Menurut Simatupang (2008), rhizosfer merupakan bagian tanah yang berada di sekitar perakaran tanaman. Populasi mikroorganisme di rhizosfer umumnya lebih banyak dan beragam dibandingkan pada tanah nonrhizosfer. Beberapa mikroorganisme rhizosfer berperan dalam siklus hara, kualitas tanah, aktivitas mikroorganisme, pertumbuhan tanaman, serta sebagai pengendali hayati terhadap penyakit pada akar (Khalid *et al.*, 2009).

Beberapa hasil penelitian melaporkan bahwa rhizobakteri dari kelompok *Bacillus spp.*, dan *Pseudomonas spp.*, mampu melarutkan fosfat (Sutariati, 2006), sedangkan kelompok *Serratia sp.*, selain mampu meningkatkan ketersediaan P (fosfat) juga dapat memfiksasi nitrogen dan mampu mensintesis IAA. Penelitian lain yang terkait dengan bakteri rhizosfer di antaranya adalah Wang *et al.*, (2017) melakukan isolasi bakteri pelarut fosfat dari rhizosfer tanaman kubis cina (*Brassica campestris ssp.*), *Burkholderia cepacia* dari rhizosfer tanaman jagung manis (Pande *et al.*, 2019) serta *Bacillus cereus* dan *Bacillus megaterium* dari rhizosfer tanaman tamarix ramossima (Abdelmoteleb dan Gonzalez Mendoza, 2020). Kumawat *et al.*, (2017) melaporkan sebagian besar genera *Bacillus spp.*, dapat dijadikan pupuk hayati karena kemampuan bakteri ini dalam melarutkan fosfat,

bahkan spesies tertentu dapat melarutkan hara mikro Zn dan Si. Informasi terkait bakteri rhizosfer yang mampu melarutkan Zn saat ini masih terbatas, sehingga dianggap perlu dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi bakteri rhizosfer dan potensi kelarutannya terhadap Zn dalam mengefektifkan suplai nutrisi Zn bagi tanaman.

1.2. Perumusan Masalah

Dalam hal penyerapan oleh tanaman, Zn mempunyai hubungan yang bersifat antagonistik dengan tingkat ketersediaan P (fosfor) di dalam tanah (Al Jabri *et al.*, 1990). Pemberian pupuk P (fosfor) dengan dosis tinggi ke dalam tanah menyebabkan penurunan ketersediaan Zn bagi tanaman (Havlin *et al.*, 1999). Selain itu ketersediaan Zn bagi tanaman juga dipengaruhi oleh tingkat kemasaman tanah (pH). Apabila pH tanah tinggi, maka ketersediaan Zn menurun. Sebaliknya, apabila pH tanah rendah maka Zn tersedia.

Penanaman intensif dengan sistem drainase yang buruk juga menjadi salah satu penyebab kekurangan Zn di dalam tanah (Zhang *et al.*, 2017). Abdulrachman dan Sembiring (2006) dalam laporannya menyimpulkan bahwa ketersediaan P meningkat setelah penggenangan, terutama karena terjadi reduksi ferifosfat (Fe^{3+}) menjadi ferofosfat (Fe^{2+}) yang melepaskan P. Umaternate *et al.*, (2014) menambahkan bahwa reaksi reduksi pada pH tanah yang digenangi akan meningkat mendekati pH netral. Kondisi reduktif akibat penggenangan dapat berpengaruh positif dalam peningkatan pH tanah sehingga pada penggenangan tanah banyak dilaporkan adanya kenaikan P tersedia. Penggunaan bibit unggul berdaya hasil tinggi yang disertai dengan dosis pemupukan yang tinggi juga menjadi penyebab terjadinya defisiensi Zn. Pemupukan N, P, dan K yang secara terus menerus akan membentuk senyawa amonium fosfat yang mengendap sehingga tidak tersedia bagi tanaman.

Ketersediaan Zn yang rendah tidak hanya menghambat produktivitas tanaman tetapi juga secara nyata menurunkan kepadatan Zn dalam hasil panen (biji, tongkol) sehingga mengganggu kualitas nutrisi. Pupuk kimia muncul sebagai cara yang mudah dan cepat untuk memperbaiki kekurangan Zn, tetapi tidak berkelanjutan dan menambah biaya produksi (Karak *et al.*, 2005). Selain itu untuk mengatasi kekurangan Zn tanah dalam jangka panjang, tidak dapat dilakukan hanya dengan

pupuk kimia karena 96-99 % dari Zn yang digunakan diubah menjadi bentuk yang tidak tersedia karena pembentukan karbonat, oksida atau sulfat dan dapat merusak lingkungan (Zhang *et al.*, 2016). Oleh karena itu, alternatif yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan bakteri rhizosfer yang berpotensi untuk melarutkan bentuk tetap Zn yang ada dalam tanah menjadi bentuk-bentuk yang tersedia secara hayati untuk memenuhi kebutuhan Zn tanaman (Vidyashree. 2016).

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian adalah

1. Mengisolasi dan mengidentifikasi bakteri rhizosfer yang berpotensi melarutkan Zn
2. Mempelajari pengaruh bakteri pelarut Zn terhadap pertumbuhan tanaman jagung

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian diharapkan dapat menjadi informasi dan referensi terkait bakteri rhizosfer yang potensial sebagai pelarut Zn.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Bakteri Rhizosfer

Kelompok utama mikroba tanah meliputi bakteri, cendawan dan protozoa. Diantara ketiga mikroorganisme tersebut bakteri merupakan mikroba yang melimpah jumlahnya di dalam tanah. Setiap gram tanah diperkirakan terdapat 60.000 spesies yang berbeda dan jumlahnya mencapai milyaran sel bakteri. Kekayaan rhizosfer akan nutrisi yang bersumber dari eksudat tanaman, memungkinkan peningkatan populasi bakteri. Menurut Ferfina (2010), pada tanah di daerah rhizosfer memiliki jumlah bakteri, cendawan dan actinomycetes yang lebih banyak dibandingkan tanah tanpa sistem perakaran (tanpa rhizosfer). Bakteri tanah, yang mendiami rhizosfer sangat berpengaruh pada proses pertumbuhan tanaman. Bakteri mampu menunjang pertumbuhan tanaman dengan menghasilkan hormone pertumbuhan, mampu melarutkan fosfat, mengkelat siderofor dan sebagai biokontrol bakteri dan cendawan patogen tanaman.

Area akar tanaman merupakan tempat berkembangbiak yang baik bagi pertumbuhan mikroba terutama bagi bakteri rhizosfer. Istilah rhizosfer diciptakan oleh Hiltner pada tahun 1904. Istilah ini menggambarkan bagian tanah, tempat mikroorganisme hidup dengan pengaruh sistem perakaran (Berg & Smalla, 2009). Aktivitas mikroorganisme rhizosfer dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh perakaran tanaman. Hubungan antara bakteri dan akar tanaman akan meningkatkan ketersediaan kebutuhan nutrisi bagi keduanya (Prayudyaningsih *et al.*, 2015). Permukaan akar tanaman dapat disebut rhizoplane. Sedangkan rhizosfer adalah lapisan tanah yang menyelimuti permukaan akar tanaman yang masih dipengaruhi oleh aktivitas akar. Tebal dan tipisnya lapisan rhizosfer setiap tanaman berbeda beda.

Rhizosfer merupakan habitat yang sangat baik bagi pertumbuhan bakteri oleh karena itu, akar tanaman menyediakan berbagai bahan organik yang umumnya menjadi tempat pertumbuhan mikroba (Sumarsih, 2003). Bakteri di dalam tanah berperan dalam siklus C, N, P, dan unsur lainnya. Beberapa spesies bakteri mampu

berperan sebagai penyedia hara di dalam tanah atau secara langsung bagi tanaman seperti bakteri penambat N, pelarut fosfat dan Kalium (Pambudi, 2017). Manfaat bakteri yang berada di daerah rhizosfer memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat sehingga dapat diserap oleh tanaman. Selain meningkatkan fosfat dalam tanah juga dapat berperan memperbaiki pertumbuhan akar tanaman dan meningkatkan serapan hara (Marista *et al.*, 2013).

Rhizosfer merupakan lingkungan di sekitar perakaran tanaman yang kaya akan nutrisi, eksudat yang dihasilkan oleh akar tanaman dan sangat diperlukan oleh mikroorganisme (Dobbelaere *et al.*, 2003). Sejumlah bakteri mengkolonisasi akar, hidup secara simbiosis dengan memanfaatkan eksudat akar tanaman (Akhtar *et al.*, 2012). Berdasarkan biografinya, area rhizosfer dicirikan dengan aktivitas biologi yang paling tinggi pada tanah (Patkowska, 2002). Lingkungan rhizosfer ditentukan oleh interaksi dari tanah, tanaman, dan organisme yang berhubungan dengan akar (Lynch, 1990). Jumlah bakteri di dalam tanah dipengaruhi oleh berbagai faktor yang dapat mempengaruhi pertumbuhannya, seperti suhu, kelembapan, aerasi dan sumber energi atau nutrisi berupa bahan organik. Tetapi secara umum populasi bakteri yang terbesar terdapat di bagian permukaan atau 15 cm – 25 cm dari permukaan tanah. Mikroorganisme tanah lebih banyak ditemukan pada permukaan tanah karena banyak tersedia bahan organik. Oleh karena itu, mikroorganisme lebih banyak berada pada lapisan tanah yang paling atas (Alexander, 1977).

Bakteri rhizosfer dapat ditemukan pada lingkungan rhizosfer tanaman, dimana suatu lapisan tipis tanah yang menyelimuti permukaan akar dan memberikan pengaruh yang positif maupun negatif terhadap pertumbuhan tanaman. Beberapa genus bakteri rhizosfer yang bersifat menguntungkan yaitu *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Burkholderia*, *Bacillus* dan *Serratia* (Podile and Kishore 2006). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa peranan rhizobakteri mempunyai kemampuan untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil produksi tanaman. Kemampuan rhizobakteri untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil produksi tanaman tergantung pada jenis rhizobakteri dan jenis tanaman.

Bakteri rhizosfer adalah bakteri yang hidup di area perakaran (rhizosfer) dan berperan penting dalam pertumbuhan tanaman. Bakteri tersebut hidup secara berkoloni dan mengelilingi akar tanaman. Manfaat bagi tanaman, keberadaan mikroorganisme akan sangat baik. Bakteri ini memberi keuntungan dalam proses

fisiologi tanaman dan pertumbuhannya serta biologis bagi tanah. Bakteri rhizosfer pemacu pertumbuhan tanaman adalah kelompok bakteri yang menguntungkan dan cepat membentuk koloni di area rhizosfer (bagian perakaran). Bakteri rhizosfer tersebut dapat menguntungkan bagi tanaman baik secara langsung maupun secara tidak langsung. Pengaruh langsung bakteri rhizosfer berdasarkan kemampuannya untuk menyediakan dan membantu penyerapan berbagai unsur hara di dalam tanah serta menyintesis dan mengubah konsentrasi fitohormon pemacu pertumbuhan tanaman. Sedangkan secara tidak langsung berkaitan dengan kemampuan menekan aktivitas penyakit dengan menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit seperti antibiotik (Kloepper, 1993)

2.2. Bakteri Pelarut Zn

Bakteri merupakan kelompok mikroorganisme dalam tanah yang paling dominan dan mungkin meliputi separuh dari biomassa mikroba dalam tanah. Bakteri terdapat dalam segala macam tipe tanah tetapi populasinya menurun dengan bertambahnya kedalaman tanah. Bakteri adalah organisme prokariotik bersel tunggal dengan jumlah kelompok paling banyak dan dijumpai di tiap ekosistem terestrial. Walaupun ukurannya lebih kecil daripada aktinomisetes dan jamur, bakteri memiliki kemampuan metabolik lebih beragam dan memegang peranan penting dalam pembentukan tanah, dekomposisi bahan organik, remediasi tanah tanah tercemar, transformasi unsur hara, berintegrasi secara mutualistik dengan tanaman dan juga sebagai penyebab penyakit tanaman (Saraswati et al, 2007).

Bakteri pelarut Zn memiliki kemampuan untuk meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman karena beragam mekanisme langsung dan tidak langsung yang terlibat untuk mempengaruhi pertumbuhan. Mekanisme langsung melibatkan pelarutan nutrisi atau mineral, stimulasi fiksasi nitrogen biologis, produksi siderofor, aktivitas ACC deaminase, dan produksi fitohormon, sedangkan mekanisme tidak langsung melibatkan produksi antibiotik, exopolysakarida dan aktivitas jamur (Dinesh et al., 2018). Strain bakteri pelarut Zn melarutkan bentuk Zn yang tidak tersedia dengan memproduksi ligan pengkelat, mensekresi asam organik, vitamin, dan fitohormon dan melalui sistem oksida reduktif dan ekstrusi proton (Saravanan et al., 2011). Produksi asam organik oleh strain bakteri merupakan mekanisme utama yang

digunakan untuk pelarutan Zn. Diantara asam organik, asam 2-ketoglukonat dan produksi asam glukonat oleh PGPR bertanggungjawab untuk pelarutan Zn (Fasim *et al.*, 2002).

2.3. Isolasi Bakteri

Mikroorganisme pada suatu lingkungan alami merupakan populasi campuran dari berbagai jenis, baik mikroorganisme pada tanah, air, udara, makanan, maupun yang terdapat pada tubuh hewan maupun tumbuhan. Pemisahan bakteri diperlukan untuk mengetahui jenis, mempelajari kultural, morfologi, fisiologi dan karakteristik. Teknik pemisahan tersebut disebut isolasi yang disertai dengan pemurnian. Pengertian isolasi bakteri yaitu suatu proses mengambil bakteri dari medium atau dari lingkungan asalnya lalu menumbuhkannya di medium buatan sehingga diperoleh biakan yang murni (Singleton dan Sainsbury, 2006). Prinsip dari isolasi mikroba adalah memisahkan satu jenis mikroba dengan mikroba lain yang berasal dari campuran bermacam-macam mikroba. Hal ini dapat dilakukan dengan menumbuhkannya dalam media padat, sel-sel mikroba akan membentuk koloni sel yang tetap pada tempatnya. Beberapa cara atau metode untuk memperoleh biakan murni dari suatu biakan campuran. Dua diantaranya yang paling sering digunakan adalah metode cawan gores dan metode cawan tuang. Yang didasarkan pada prinsip pengenceran dengan maksud untuk memperoleh spesies individu. Dengan anggapan bahwa setiap koloni dapat terpisah dari satu jenis sel yang dapat diamati (Afrianto, 2004).

2.4. Identifikasi Bakteri

Proses identifikasi bakteri secara konvensional berdasarkan karakter fenotip bakteri seperti pewarnaan gram, morfologi koloni, dan aktivitas enzim seringkali tidak bersifat statis dan dapat berubah seiring dengan adanya evolusi. Kesalahan identifikasi seringkali terjadi dikarenakan hadirnya karakteristik fenotip bakteri yang tidak biasa ataupun kurangnya pengalaman dalam menginterpretasikan data karakter fenotip. Hal ini menimbulkan hadirnya metode identifikasi secara molekuler menggunakan gen 16S rRNA. Hal ini juga mengurangi prasangka penafsiran dan

menyingkirkan kebutuhan untuk kemungkinan "pretest" mengenai klasifikasi mikroorganisme untuk pemeriksaan langsung dan pemilihan database (Petti *et al.*, 2005).

Gen 16S rRNA adalah gen yang digunakan dalam menentukan filogenetik dan taksonomi dari bakteri secara molekuler. Penggunaan 16S rRNA sekuensing gen di laboratorium menjadi umum untuk mengidentifikasi bakteri biokimia tak dikenal atau menyediakan referensi identifikasi untuk strain yang tidak biasa (Janda & Abbott, 2007). Penggunaan gen 16S rRNA dengan Teknik Polymerase Chain Reaction (PCR) memungkinkan untuk mengidentifikasi bakteri dengan cepat dan spesifik. PCR merupakan suatu metode enzimatik untuk melipat gandakan secara eksponensial suatu sekuens nukleotida tertentu dengan cara *in vitro* (Yuwono, 2006).

2.5. Unsur Hara Mikro

Tanah jarang sekali mempunyai kemampuan yang cukup untuk menyediakan semua elemen esensial sepanjang waktu sesuai dengan kuantitas yang cukup bagi tanaman untuk dapat berproduksi dengan baik. Kesuburan tanah adalah suatu kemampuan tanah untuk menyediakan hara dalam tanah dengan jumlah yang cukup dan seimbang. Suatu tanaman akan tumbuh dengan subur apabila unsur hara yang dibutuhkannya tersedia dengan cukup (Lakitan, 2007). Unsur hara adalah sumber nutrisi atau makanan yang dibutuhkan tanaman, baik itu unsur hara yang tersedia di alam (organik) maupun yang sengaja ditambahkan. Seperti halnya makhluk hidup lainnya, tanaman memerlukan nutrisi lengkap dalam kelangsungan pertumbuhannya. Ketersediaan unsur hara sangat menentukan kualitas tanaman, yang meliputi perkembangan, pertumbuhan dan produktifitas tanaman.

Terdapat unsur hara esensial yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah yang relatif sedikit yaitu unsur hara mikro. Unsur hara mikro mempunyai fungsi yang spesifik dalam pertumbuhan dan perkembangan tanaman serta fungsinya tidak dapat digantikan secara sempurna oleh unsur hara lain, tetapi bila berlebihan akan menjadi racun bagi tanaman tersebut. Unsur hara mikro antara lain Besi (Fe), Tembaga (Cu), Seng (Zn), Mangan (Mn), Molibdenum (Mo), Boron (B), dan Klor (Cl) (Sudarmi, 2013). Unsur hara mikro memiliki peran penting seperti unsur hara makro, walaupun kebutuhan akan unsur hara mikro relatif rendah. Unsur hara mikro

berperan dalam metabolisme yang berdampak pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman yang menentukan kualitas dan kuantitas hasil produksi (Norvell, 1972). Sebagai contoh apabila tanaman kekurangan unsur hara mikro Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, dan B berdampak pada daun tanaman yang akan mengalami klorosis, pertumbuhan tanaman menjadi terhambat.

2.5.1. Unsur Hara Zn

Unsur hara Zn merupakan salah satu unsur hara mikro yang sangat penting bagi pertumbuhan tanaman dan unsur mikro yang sering membatasi hasil. Unsur hara Zn berperan penting dalam proses sintesis hormon tumbuh (auksin) dan proses sintesis protein (Marschner, 1986) sehingga kekurangannya menghambat pertumbuhan dan produksi tanaman. Unsur hara Zn dalam tanah dikelompokkan dalam bentuk mudah tersedia sampai tidak tersedia bagi tanaman, yaitu bentuk terlarut dalam air, dapat dipertukarkan, teradsorpsi dalam bentuk khelat atau bentuk senyawa kompleks, liat mineral sekunder, oksida metalik tidak larut dan bentuk mineral primer (Alloway, 2007). Endapan Zn dapat terbentuk dengan senyawa-senyawa hidroksida, karbonat, fosfat, sulfida, molibdat dan asam-asam organik berasal dari dekomposisi senyawa-senyawa organik yang terdapat dalam bahan-bahan organik (Bohn et al., 1979). Adsorpsi Zn^{2+} yang kuat dalam tanah dapat terjadi dengan adanya bahan organik dalam dan mineral liat, dan hal ini berhubungan dengan KTK dan kemasaman tanah (Warneke & Barber, 1973). Unsur hara Zn diperlukan oleh tanaman dalam jumlah sedikit tetapi mutlak harus ada. Jika jumlahnya tidak mencukupi, tanaman akan menderita cekaman fisiologis yang diakibatkan oleh tidak berfungsinya beberapa sistem enzim dan fungsi metabolik lain dimana Zn memainkan perannya (Alloway, 2007). Pada tanaman, Zn memegang peran kunci sebagai unsur penyusun struktur atau kofaktor pengatur jenis enzim yang berbeda pada banyak jalur biokimia yang penting. Fungsi Zn berhubungan dengan metabolisme karbohidrat, baik fotosintesis maupun perubahan gula menjadi pati, metabolisme protein, metabolisme auksin, pembentukan polen, perawatan integritas membran biologis, ketahanan terhadap infeksi oleh patogen tertentu (Cakmak dan Engles, 1997).

2.5.2. Defisiensi Unsur Hara Zn

Tanaman yang mengalami defisiensi hara menunjukkan gejala tertentu yang khas. Defisiensi Zn mengakibatkan daun tua mengalami klorosis intervena dan kemudian membentuk bintik nekrosis putih dan dapat berubah menjadi berwarna tembaga. Klorosis mungkin terjadi akibat kebutuhan akan Zn untuk pembentukan klorofil. Bercak nekrotik pada daun terjadi di area klorosis pada luasan yang sempit, tetapi jika defisiensi tidak ditangani, bercak nekrotik dapat bertambah besar sesuai dengan umur tanaman (Dang et al., 1994). Defisiensi Zn juga nampak dengan gejala penurunan pertumbuhan internodia sehingga tanaman berbentuk roset, daun kecil dengan tepi melipat. Daun roset terjadi ketika internode batang tanaman dikotil gagal memanjang secara normal, sehingga daun terbentuk berdekatan satu sama lain dalam satu kelompok, bukannya menyebar diantara nodus seperti pada tanaman sehat. Ini merupakan gejala yang sangat khas dari defisiensi Zn pada tanaman dikotil. Gejala ini muncul sebagai akibat penurunan kemampuan tanaman menghasilkan auksin dalam jumlah cukup (Taiz dan Eiger, 1998). Dalam perbandingannya dengan unsur hara makro dan unsur hara mikro, gejala daun yang defisien Zn ditemukan baik pada daun tua maupun daun muda, sedangkan gejala defisiensi tembaga, besi, mangan dan sulfur ditemukan hanya pada daun baru (Singh et al., 1972).

2.6. Kerangka Pikir

