

TEKNOLOGI MIKROBA:
***ACTINOMYCETES* DAN *RHIZOBIUM* UNTUK**
PERBAIKAN PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI
TANAMAN KEDELAI

Sanksi Pelanggaran Hak Cipta

Undang-Undang Republik Indonesia No. 19 Tahun 2002 tentang Hak Cipta

Lingkup Hak Cipta

Pasal 2:

1. Hak Cipta merupakan hak eksklusif bagi pencipta dan pemegang Hak Cipta untuk mengumumkan atau memperbanyak ciptaannya, yang timbul secara otomatis setelah suatu ciptaan dilahirkan tanpa mengurangi pembatasan menurut peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Ketentuan Pidana

Pasal 72:

1. Barang siapa dengan sengaja atau tanpa hak melakukan perbuatan sebagaimana dimaksud dalam pasal 2 ayat (1) atau pasal 49 ayat (1) dan (2) dipidana dengan pidana penjara masing-masing paling singkat 1 (satu) bulan dan/atau denda paling sedikit Rp1.000.000,00 (satu juta rupiah), atau pidana penjara paling lama 7 (tujuh) tahun dan/atau denda paling banyak Rp5.000.000.000,00 (lima milyar rupiah).
2. Barang siapa dengan sengaja menyiarkan, memamerkan, mengedarkan, atau menjual kepada umum suatu ciptaan atau barang hasil pelanggaran Hak Cipta atau Hak Terkait sebagaimana dimaksud dalam ayat (1) dipidana dengan pidana penjara paling lama 5 (lima) tahun dan/atau denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).

**TEKNOLOGI MIKROBA:
ACTINOMYCETES DAN *RHIZOBIUM* UNTUK
PERBAIKAN PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI
TANAMAN KEDELAI**

Dr. Ir. Asmiaty Sahur, M.P.



Ficus Press

2021

TEKNOLOGI MIKROBA:
ACTINOMYCETES DAN *RHIZOBIUM* UNTUK PERBAIKAN
PERTUMBUHAN DAN PRODUKSI TANAMAN KEDELAI

Penulis : Asmiaty Sahur
Editor : Nurfaida
Desain Sampul : Rizza Nurul Aprilia

Penerbit: Ficus Press
Departemen Budidaya Pertanian
Fakultas Pertanian
Universitas Hasanuddin
Jalan Perintis Kemerdekaan Km. 10
Makassar 90245
E-mail: ficuspress.unhas@gmail.com

Cetakan Pertama Bulan Agustus 2021
ix + 103; 15,5 × 23 cm
ISBN: 978-602-53837-8-6

© Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
Isi di luar tanggung jawab penerbit

PRAKATA

Segala puji hanya bagi Allah *Subhanahu wa Ta'ala* Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang yang telah memberikan limpahan karunia dan rahmat-Nya sehingga kita dapat melaksanakan aktivitas hidup dengan penuh keberkahan. Petunjuk dan tuntunan senantiasa kita harapkan dan gantungkan pada-Nya.

Penulis menyadari banyaknya kekurangan dalam penyusunan buku ini, baik dari segi penulisan, pemahaman, bahasa maupun isinya. Oleh karena itu, penulis secara terbuka menerima kritik dan saran dari berbagai pihak.

Makassar, Juli 2021

Penulis

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
I PENDAHULUAN	10
II MIKROORGANISME DAN <i>PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA</i>	10
2.1 Mikroorganisme	10
2.2 <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR)	18
III HORMON TUMBUH	24
3.1 Hormon Tumbuh <i>Auksin</i>	24
3.2 Hormon Tumbuh <i>Gibberellin Acid</i>	25
IV TANAMAN KEDELAI	27
4.1 Pertumbuhan Tanaman Kedelai	27
4.2 Pertumbuhan Fase Vegetatif dan Generatif	28
V TEKNIK ISOLASI DAN APLIKASI MIKROBA	30
5.1 Isolasi, Karakterisasi Morfologi dan Identifikasi Isolat	30
5.2 Identifikasi Mikroba Potensial	39
5.3 Pengaplikasian Mikroba pada Tanaman	40
5.4 Inokulasi <i>Actinomycetes</i> dan <i>Rhizobium</i>	41
VI HASIL TERAPAN TEKNOLOGI MIKROBA	45
6.1 Isolasi dan Karakteristik Morfologi Isolat	45
6.2 Kemampuan Isolat Memfiksasi Nitrogen dan Melarutkan Fosfat	48
6.3 Pelarutan Fosfat	51
6.4 Kemampuan isolate memproduksi IAA dan GA3	54
6.5 Kemampuan Memproduksi Siderofor	57
6.6 Pengaruh Aplikasi Isolat Terhadap Pertumbuhan dan hasil Tanaman Kedelai	59
6.7 Analisis Korelasi Antar Karakter	63
6.8 Analisis Lintas	64

VII	TEORI TERAPAN TEKNOLOGI MIKROBA	
	<i>AKTINOMYCETES</i>	68
7.1	Isolasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri	68
7.2	Karakterisasi Fisiologis Isolat Bakteri Memfiksasi Nitrogen dan Melarutkan Fosfat	70
7.3	Kemampuan Isolat Memproduksi IAA, GA Dan Siderofor	74
7.4	Pengaruh Aplikasi Isolat Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kedelai	80
VIII	INVENSI MIKROBA	87
	DAFTAR PUSTAKA	88

DAFTAR TABEL

1	Penanda pertumbuhan vegetatif kedelai	28
2	Penanda pertumbuhan generatif kedelai	29
3	Karakter morfologi koloni dan reaksi gram positif isolat <i>Rhizobacteria</i> asal <i>rhizosphere</i> tanaman kedelai	46
4	Karakter morfologi koloni dan reaksi gram negatif isolat <i>Rhizobacteria</i> asal <i>rhizosphere</i> tanaman kedelai	47
5	Hasil pengujian kemampuan fiksasi nitrogen isolat dari <i>Rhizosphere</i> tanaman kedelai	49
6	Kemampuan pelarutan fosfat isolat asal <i>Rhizosphere</i> tanaman kedelai	54
7	Tingkat Konsentrasi IAA, GA3, dan Produksi Siderefor	58
8	Rata-rata Tinggi Tanaman (cm ²) Kedelai Fase Pembentukan Polong Maksimal pada Pemberian <i>Actinomycetes</i> dan <i>Rhizobium</i>	60
9	Rata-rata luas daun tanaman kedelai fase pertumbuhan vegetatif dan fase reproduksi pada perlakuan pemberian <i>Rhizobium</i> dan <i>Actinomycetes</i>	60
10	Rata-rata indeks khlorofil daun tanaman kedelai fase pembentukan polong maksimal pada perlakuan pemberian <i>Actinomycetes</i> dan <i>Rhizobium</i>	61
11	Rata-rata jumlah stomata pada mesofil daun pada perlakuan Pemberian <i>Actinomycetes</i> dan <i>Rhizobium</i>	61
12	Rangkuman KK dan F Hitung dari sifat agronomi	63
13	Nilai korelasi komponen produksi sifat terhadap berat biji pertanaman	64
14	Koefisien langsung dan tak langsung korelasi antara jumlah biji pertanaman, jumlah polong berisi dan jumlah polong terhadap berat biji pertanaman	65
15	Rangkuman korelasi terhadap berat biji pertanaman (rx1Y), pengaruh langsung terhadap berat biji pertanaman (ρX1Y) dan sumbangan total sifat-sifat agronomi terhadap berat biji pertanaman	66

DAFTAR GAMBAR

1	Musigel area <i>rhizoplant</i> (dimodifikasi dari: Maier <i>et al.</i> 2009)	15
2	Peta lokasi pengambilan sampel	32
3	Persentase jumlah koloni teridentifikasi gram negatif	47
4	Persentase jumlah koloni teridentifikasi gram positif	48
5	Persentase tumbuh isolat pada media Burk's	50
6	Uji pelaruran Fospat: (a) isolat yang membentuk zona halo (b) isolat yang membentuk zona halo di sekitar koloni	52
7	Produksi IAA yang ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan reagen Salkowski	55
8	Tingkat konsentrasi IAA di produksi oleh isolate	56
9	Tingkat konsentrasi GA3 di produksi isolat	56
10	Hubungan struktural antara jumlah biji pertanaman, jumlah polong berisi, jumlah polong dan berat biji pertanaman	65

I PENDAHULUAN

Kedelai merupakan salah satu tanaman kacang-kacangan yang memiliki kandungan protein nabati yang cukup tinggi berkisar 34% dibandingkan dengan protein hewani (Ditjentan 2004). Kedelai tidak hanya digunakan sebagai sumber protein nabati, tetapi juga sebagai pangan fungsional untuk mencegah timbulnya penyakit degeneratif, seperti jantung koroner dan hipertensi. Zat isoflavon yang ada pada kedelai ternyata berfungsi sebagai antioksidan. Tidak hanya itu, saat ini kedelai banyak digunakan sebagai sumber energi alternatif atau biofuel. Kedelai sebagai sumber protein nabati, umumnya dikonsumsi dalam bentuk produk olahan, yaitu: tahu, tempe, kecap, tauco, susu kedelai dan berbagai bentuk makanan ringan (Sudaryanto dan Swastika 2007).

Kedelai digunakan sebagai bahan baku utama dalam pembuatan tahu dan tempe yang telah menjadi menu sehari-hari masyarakat Indonesia. Hal tersebut menjadikan kedelai sebagai salah satu komoditas penting di Indonesia. Sifat multiguna yang terdapat pada kedelai menyebabkan tingginya permintaan kedelai di dalam negeri. Selain itu, manfaat kedelai sebagai salah satu sumber protein murah membuat kedelai semakin diminati. Seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk maka

permintaan kedelai di dalam negeri pun berpotensi untuk meningkat. Kebutuhan kedelai di Indonesia sekitar 2,2 juta ton biji kering rata-rata setiap tahunnya. Namun, produksi kedelai tahun 2014 hanya 955,00 ribu ton biji kering atau meningkat sebanyak 175,01 ribu ton (22,44%) dibandingkan tahun 2013 dan tahun 2015 produksi kedelai sebanyak 998,87 ribu ton biji kering atau meningkat sebanyak 43,87 ribu ton (4,59%) dibandingkan tahun 2014. Selama ini untuk memenuhi kekurangan tersebut harus dipenuhi dari impor yang dapat menghilangkan devisa negara cukup besar jika dilakukan terus menerus (BPS 2015).

Tanaman kedelai di Indonesia sampai saat ini masih merupakan komoditas strategis ketiga setelah padi dan jagung dengan tingkat konsumsi masyarakat rata-rata 8,12 kg/kapita/tahun (Sudaryanto dan Swastika 2007). Produksi kedelai tahun 2015 adalah 963.183 ribu ton biji kering atau terjadi kenaikan sebesar 0,8% dari tahun sebelumnya (BPS 2015) dengan konsumsi masyarakat mencapai 2,54 juta ton biji kering kedelai yang terdiri atas konsumsi langsung penduduk sebesar 2 juta ton biji kering kedelai, pakan ternak sebesar 3.000 ton biji kering kedelai, benih sebesar 39.000 ton biji kering kedelai, industri nonmakanan sebesar 446.000 ton biji kering kedelai, dan susu sebesar 49.000 ton biji kering kedelai (Aditiasari 2015).

Seiring dengan perkembangan jumlah penduduk dan semakin berkembangnya industri pengolahan pangan di Indonesia maka kebutuhan akan kedelai semakin meningkat pula. Berdasarkan data Kementerian Pertanian, dalam kurun waktu

lima tahun (2010–2015) kebutuhan kedelai setiap tahunnya mencapai sekitar 2.300.000 ton biji kering. Akan tetapi, kemampuan produksi dalam negeri saat ini baru mampu memenuhi sebanyak 851.286 ton pada tahun 2011 atau 37,01% dan terjadi penurunan di tahun 2012 ke produksi yang hanya 843.153 ton, selanjutnya di tahun 2013 terjadi penurunan produksi menjadi 779.992 ton, di tahun 2014 produksi meningkat ke 954.997 diikuti peningkatan produksi di tahun 2015 menjadi 963.183 ton. Salah satu yang mendorong kenaikan ini adalah membaiknya harga kedelai dunia dan berbagai insentif yang dilakukan pemerintah untuk tercapainya swasembada kedelai tahun 2015.

Untuk mengembangkan dan meningkatkan produksi, langkah ekstensifikasi sudah semakin sulit dilakukan karena semakin terbatasnya lahan. Intensifikasi kedelai menjadi jalan yang lazim ditempuh melalui pengelolaan lahan secara intensif dengan menggunakan senyawa kimia seperti bentuk zat pengatur tumbuh (ZPT) sintetik, pupuk anorganik dan pestisida. Pemberian senyawa kimia tersebut awalnya diharapkan menyuburkan lahan, tetapi berdampak menyebabkan terjadinya degradasi lahan dan berujung pada terpaparnya lahan oleh residu bahan kimia yang mengancam kesehatan organisme hidup seperti manusia, hewan dan bahkan mikroba tanah berguna. Input eksternal sebaiknya dapat menjadi input internal dalam lingkungan pertanian. Salah satu input eksternal yang dapat berubah menjadi input internal adalah pemanfaatan organisme

mikroba melalui peranannya yang sangat penting dalam menyediakan elemen-elemen senyawa pemacu pertumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh tanaman, misalnya *Gibberelic acid* dan *Auksin* yang sangat diperlukan bagi pertumbuhan tanaman.

Perluasan area tanam pada kenyataannya mengalami kendala karena berkurangnya lahan subur akibat alih fungsi lahan pertanian untuk pengembangan industri, permukiman, dan jaringan transportasi. Oleh karena itu, pengembangan pertanaman kedelai perlu diarahkan pada pemanfaatan lahan-lahan marginal. Lahan pesisir yang tersedia cukup luas merupakan lahan marginal yang kurang sesuai untuk pertumbuhan tanaman dan dapat menurunkan produksi karena tanaman mengalami cekaman lingkungan.

Berbagai perlakuan diberikan guna untuk pertumbuhan dan produktivitas tanaman kedelai seperti pemberian mulsa, pemupukan baik anorganik maupun organik, pengomposan dan berbagai bahan yang dibeli di pasaran. Teknologi atau perlakuan diperlukan agar dapat memperbaiki kondisi tanah serta tanaman dapat tumbuh baik dan berproduktifitas tinggi.

Aplikasi mikroba pada tanaman merupakan salah satu upaya untuk mengatasi terhambatnya pertumbuhan karena terjadinya penurunan sifat kesuburan tanah sebagai akibat penggunaan pupuk kimia secara berlebihan dan pengaplikasian pestisida secara terus menerus. Salah satu mikroba yang bermanfaat dan dapat digunakan sebagai salah satu upaya untuk menambah kesuburan tanah adalah *Rhizobium*. *Rhizobium*

merupakan bentuk simbiosis mutualisme antara bakteri dan sistem akar tanaman Leguminosae.

Sebuah studi sebelumnya yang dilakukan telah menguji interaksi antar tanaman kacang ercis (*Pisum sativum*) dan mikroba spesies *Streptomyces*. Spesies *Streptomyces lydicus* WYEC108, berkolonisasi akarnya dengan kacang-kacangan *Pisum sativum*. Interaksi ini berpotensi penting bagi perbaikan dan pertumbuhan tanaman *Pisum sativum* dengan cara meningkatkan sifat menodulasi jenis kacang-kacangan tersebut. Akar terinfeksi *Actinomycetes Streptomyces lydicus* WYEC108 mempengaruhi nodulasi akar kacang *Pisum sativum* dengan meningkatkan frekuensi akar nodulasi yang diduga terjadi pada tingkat infeksi oleh *Rhizobium* spp. *Streptomyces lydicus* juga berkolonisasi dan kemudian sporulasi dalam lapisan sel permukaan nodul (Tokala *et al.* 2002). Kolonisasi ini menyebabkan peningkatan ukuran rata-rata nodul yang terbentuk dan meningkatkan kekuatan dari bakteroid dalam nodul dengan cara meningkatkan asimilasi nodular besi dan juga memperbaiki nutrisi tanah lainnya (Tokala *et al.* 2002). Beberapa studi melaporkan bahwa beberapa *Actinomycetes* menghasilkan sejumlah chitinase (Crawford dan Mahadevan 1997), dan juga hydroxamate tipe siderophores (Hamby 2001).

Berdasarkan asumsi bahwa akar dan nodul berkolonisasi sebagai salah satu dari beberapa mekanisme yang dilakukan oleh *Streptomyces* sebagai bakteri yang bekerja secara alami dalam kacang pea dan kemungkinan juga pada tanaman leguminosae

lainnya. Oleh karena itu, dilakukan isolasi dan identifikasi secara morfologi dan fisiologi terhadap *Actinomyces* yang diisolasi dari tanaman kedelai yang berasal dari Sulawesi Selatan.

Praktek pertanian tradisional telah mengandalkan budidaya ekstensif tanah dan penggunaan pestisida dan pupuk kimia untuk menghasilkan produksi tanaman sereal yang tinggi dan unggul. Namun, saat ini efek samping dari praktek ini telah muncul. Beberapa efek tersebut, antara lain, erosi dan hilangnya tanah lapisan atas dan struktur tanah yang rusak dari budidaya tanah, penggunaan pestisida sangat berbahaya dalam rantai makanan dan menyebabkan kontaminasi dan eutrofikasi perairan.

Untuk mengatasi masalah ini berbagai praktek pengelolaan lingkungan yang berkelanjutan saat ini diterapkan sebagai alternatif praktek pertanian tradisional. Praktek-praktek ini, seperti budidaya penanaman langsung dan penggunaan jerami memiliki keunggulan seperti kerusakan tanah berkurang dan peningkatan bahan organik tanah. Namun, dalam jangka pendek, praktek-praktek ini dapat memiliki konsekuensi merugikan bagi petani sereal karena dapat menyebabkan terjadinya peningkatan tingkat penyakit dan hasil berkurang.

Pengelolaan lahan secara tradisional sangat berkaitan erat dengan peningkatan produksi kedelai yang tidak lepas dari penerapan teknik budidaya kedelai yang benar. Pada dasarnya untuk membudidayakan kedelai dibutuhkan teknik budidaya serta faktor lingkungan yang mendukung. Komponen pada lingkungan seperti faktor iklim, kesuburan fisik-kimia dan

biologi tanah, gulma serta hama penyakit menjadi faktor penentu keberhasilan usaha produksi kedelai.

Kegiatan memperbaiki kesuburan fisik-kimia dan biologi tanah merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk memperbaiki dan memacu pertumbuhan dan produksi kedelai. Salah satu usaha perbaikan yang dapat dilakukan adalah dengan memanfaatkan mikroorganisme endofit yang dapat bersinergis dengan *Rhizobium* untuk memacu pertumbuhan produksi tanaman kedelai yaitu *Actinomycetes*. Dalam beberapa tahun terakhir, *Actinomycetes* dikenal sebagai mikroorganisme komersial yang dapat menghasilkan antibiotik dan metabolit lain yang berguna. Selain itu, *Actinomycetes* endofit dapat memainkan peran penting dalam pertanian dan kehutanan karena dapat menghasilkan beberapa pestisida untuk menggunakan bukan pestisida kimia. Hal ini membantu untuk melestarikan lingkungan dan makhluk hidup dari bahan kimia beracun. Begitu banyak orang tertarik untuk mengetahui tentang keberadaan *Actinomycetes* tersebut. Ada dua spesies *Actinomycetes* yang telah diisolasi dan diketahui memiliki aktivitas bioaktif yang baik yaitu *Frankia sp* dan *Streptomyces scabies* yang telah dikenal. Genus *Frankia* adalah bakteri pengikat nitrogen tanaman nonpolongan yang diisolasi pada tahun 1886 dan *S. scabies* ditemukan pada tahun 1890 sebagai phytopathogen (Okazaki *et al.* 1995). Sardi *et al.* (1992) mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari akar permukaan disterilkan dari 28 tanaman spesies dari barat laut Italia. Sebagian besar dari isolasinya adalah strain

Streptomyces, Streptoverticillium, Nocardia, Micromonospora, dan Sterptosporangium.

Coombs dan Franco (2003) mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari jaringan akar permukaan tanaman gandum sehat (*Triticum aestivum* L.) yang dikumpulkan dari Australia Selatan. Sebagian besar isolat yang diperoleh adalah genus *Streptomyces* dan jenis lainnya adalah *Microbispora*, *Micromonospora*, dan *Nocardiodes*. Selain itu, ada beberapa penelitian yang mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari bagian lain dari tanaman yaitu de Araujo *et al.* (2000) mengisolasi *Actinobacteris* endofit dari akar dan daun jagung. *Microbispora* sp. adalah genus yang paling banyak ditemukan diikuti oleh *Streptomyces* sp. dan *Streptosporangium* sp. Taechowisan *et al.* (2003) mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari permukaan akar, batang dan daun herba dan tanaman berkayu yang disterilkan di lingkungan Chiang Mai, Thailand dengan kelompok isolat yang terbanyak diperoleh adalah *Streptomyces* sp., *Microbispora*, *Nocardia*, dan *Micromonospora*. Okazaki *et al.* (1995) menemukan genus *Microbispora* spp. diisolasi dari daun tanaman dan diperoleh hasil yang lebih tinggi dibandingkan yang diisolasi dari tanah. Strobel (2003) telah menemukan bahwa tanaman yang tumbuh di daerah dengan keanekaragaman hayati yang besar memiliki endofitik dengan keanekaragaman hayati yang besar.

Actinomycetes endofit telah diketahui sebagai organisme yang terlibat dalam pertumbuhan dan produksi inang suatu tanaman. Tanaman kedelai merupakan salah satu tanaman

serealia yang dapat menjadi inang *Actinomycetes* endofit. Mikroorganisme tersebut dapat diaplikasikan sebagai inokulan untuk meningkatkan hasil tanaman serealia dan untuk menanggulangi jamur phitopatogenik. Penggunaan *Actinomycetes* endofit mempunyai dua keuntungan sebagai agen biokontrol tanah. Pertama, mikroorganisme tersebut dapat mengkolonisasi jaringan tanaman inang dan tidak berkompetisi dengan musuh alami. Kedua, *Actinomycetes* telah diketahui dapat memproduksi metabolit sekunder dan juga dapat diaplikasikan secara mudah karena kemampuan sporanya yang tahan panas dan kekeringan.

Dalam rangka mencapai tujuan tersebut, maka dikembangkan metode untuk mengisolasi *Actinomycetes* endofit dari tanaman kedelai sehingga diketahui jenis isolat *Actinomycetes* yang berperan dan dapat bersinergi dalam membantu pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai. Identifikasi *Actinomycetes* endofit ini juga akan membantu memberikan informasi isolat *Actinomycetes* yang mampu memproduksi metabolit sekunder yang dapat berfungsi sebagai antijamur dan PGPR.

II MIKROORGANISME DAN PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA

2.1 Mikroorganisme

2.1.1 Bakteri *Actinomycetes*

Actinomycetes adalah bakteri gram positif berfilamen. Bakteri tersebut tergolong bakteri saprofit yang menguraikan bahan organik, terutama polimer seperti lignoselulosa, pati dan kitin dalam tanah. Beberapa *Actinomycetes* juga dikenal dapat membentuk asosiasi yang lebih erat dengan tanaman dan mengkolonisasi jaringan internal tanaman inang. Bakteri jenis *Actinomycetes* tersebut adalah kelompok yang unik dari bakteri yang memiliki morfologi karakter biokimia dan fisiologis serta sekelompok bakteri yang dapat tumbuh di beberapa kondisi alam (Augustinus *et al.* 2005). Bakteri bergram positif tersebut memiliki kandungan guanin - sitosin (G + C) yang tinggi dalam genom dan ukuran genom berkisar antara 1,5–2,0 kali lebih besar dari *E. coli*. Mikroba ini menarik bila dibandingkan dengan bakteri lain karena memiliki morfologi yang berbeda seperti hifa, struktur miselium seperti synemma dan sklerotium.

Bakteri *Actinomycetes* memiliki berbagai struktur bantalan spora reproduksi seperti rantai spora, sporangia, konidia dan

spora kubah (Vobis 1997). Morfologi bakteri tersebut terlihat seperti jamur eukariotik, tetapi dapat dibedakan dengan menggunakan mikroskop scanning elektron (Coombs dan Franco 2003). Morfologi *Actinomycetes* tergantung pada sifat dari organisme, komposisi medium, kondisi pertumbuhan dan adanya pertumbuhan merangsang dan menghambat pertumbuhan tanaman inang (Waksman 1967). Bakteri *Actinomycetes* dapat mempengaruhi pertumbuhan tanaman dan melindungi tanaman akar terhadap invasi oleh akar jamur patogen.

Actinomycetes dapat menghasilkan metabolit sekunder seperti antibiotik yang telah diaplikasikan secara komersial pada industri farmasi. Kebanyakan antibiotik berasal dari genus *Streptomyces*. Beberapa *Actinomycetes* juga dapat memproduksi senyawa herbisida dan insektisida yang dapat meminimalkan penggunaan bahan kimia untuk menjaga lingkungan dari efek negatif bahan kimia yang beracun (Crawford *et al.* 1993). Beberapa mikroba ini dapat menghasilkan enzim seperti selulosa dan xilanase yang digunakan dalam pengolahan limbah (Oskay *et al.* 2004).

2.1.2 Sifat Endofitik

Endofitik adalah mikroorganisme (kebanyakan jamur dan bakteri) yang hidup di ruang intraseluler jaringan tanaman tanpa menyebabkan efek negatif dan gejala penyakit (Bacon dan White 2000). Endofitik hidup dan berasosiasi dengan tumbuhan inangnya dan memperbaiki pertumbuhan tanaman inang.

Endofitik menembus jaringan tanaman melalui akar, tetapi menggunakan bagian tanaman seperti bunga, batang dan daun untuk masuk. Bakteri endofitik masuk ke dalam tanaman pada titik masuk atau menyebar ke seluruh tanaman (Hallmann *et al.* 1997). Endofitik bisa hidup dalam sel, di ruang antar atau dalam sistem vaskula. Beberapa spesies endofitik dapat menghasilkan zat bioaktif yang mungkin dapat berinteraksi dengan tanaman inang (Strobel 2003).

Mycorrhizae dan bakteri pengikat nitrogen juga hidup dan berasosiasi dengan tanaman inang dan dapat dianggap sebagai mikroorganisme endofit. Namun, *mycorrhizae* dibedakan dari endofitik akar lain dengan fakta bahwa *mycorrhizae* memiliki struktur eksternal sebagai hifa. Selain itu, bakteri endofit nitrogen seperti *Rhizobium*, yang membentuk struktur eksternal yang disebut nodul, dibedakan dari bakteri lain akar endofit (Azevedo *et al.* 2000).

2.1.3 Rhizosphere

Rao dan Subba (1994) mengemukakan bahwa bagian tanah yang dipengaruhi oleh perakaran tanaman dikenal sebagai daerah *rhizosphere*. Karakteristik *rhizosphere* didominasi oleh lebih banyaknya kegiatan mikrobiologis dibandingkan kegiatan di bagian kedalaman tanah yang jauh dari perakaran tanaman. Interaksi antara mikroba yang terdapat dalam tanah dengan perakaran tanaman tergantung pada panjangnya jarak tempuh yang dicapai oleh eksudasi sistem perakaran. Jika diistilahkan

sebagai suatu “*rhizosphere effect*” maka efek tersebut menunjukkan pengaruh keseluruhan perakaran tanaman terhadap mikroorganisme tanah. Maka, akan lebih banyak jumlah bakteri, jamur dan *Actinomycetes* dalam tanah yang termasuk *rhizosphere* dibandingkan tanah yang tidak memiliki *rhizosphere*. Beberapa faktor seperti tipe tanah, kelembaban tanah, pH dan temperatur, dan umur serta kondisi tanaman mempengaruhi efek *rhizosphere*.

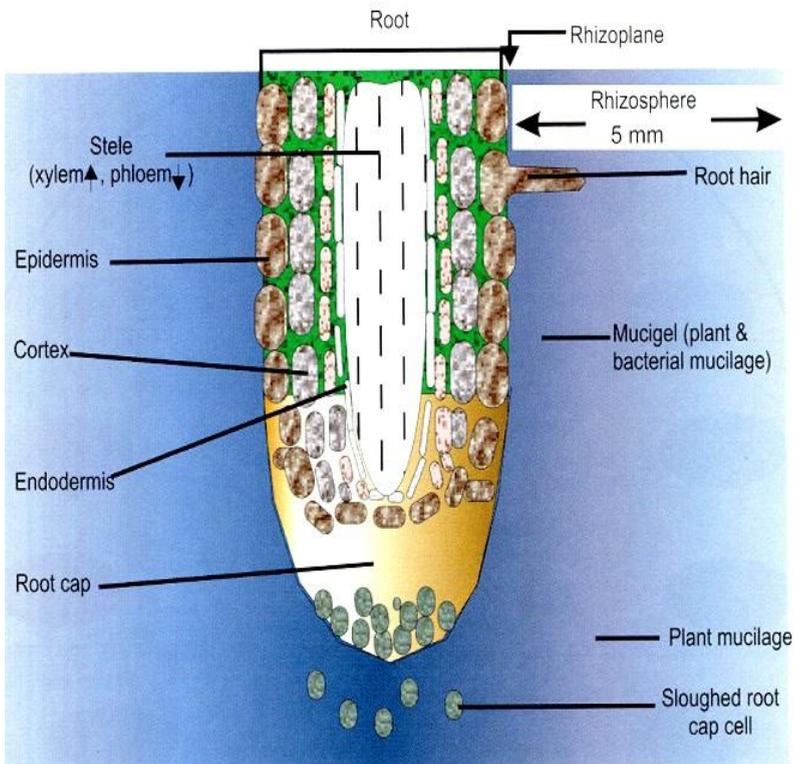
Pertambahan jumlah mikroorganisme dan juga semakin meningkatnya kebutuhan mikroba untuk terjadinya proses interaksi seperti kebutuhan akan asam amino, vitamin-vitamin B dan faktor nutrisi lainnya yang dapat membantu terjadinya proses interaksi. Efek *rhizosphere* tersebut akan meningkatkan laju kegiatan metabolik mikroorganisme *rhizosphere* itu berbeda dengan laju kegiatan metabolik mikroorganisme dalam tanah *nonrhizosphere*. Sebagaimana dikemukakan oleh penemunya yang menggambarkan *rhizosphere* sebagai bagian dari tanah yang secara langsung dipengaruhi oleh substansi yang dikeluarkan dari akar ke dalam proses pertumbuhan mikroorganisme dalam larutan tanah sehingga tercipta kondisi yang menyenangkan bagi bakteri tertentu (Bruehl 1987). Hal lain juga digambarkan bahwa adanya organisme yang merugikan di sekitar akar dari tanaman yang sakit dan organisme yang bermanfaat di sekitar akar dari tanaman yang sehat. Fakta biologi utama dari *rhizosphere* atau daerah yang dipengaruhi akar adalah jumlah yang banyak dan aktivitas yang tinggi dari mikroorganisme tanah dalam area ini dibandingkan dengan tanah

tanpa akar. Di antara dua area ini terdapat area transisi di mana pengaruh akar menurun seiring dengan jarak. Biasanya daerah *rhizosphere* merupakan lapisan tipis yang tetap menempel pada akar setelah tanah di sekitar akar dihilangkan dengan cara menggoyangkan perakaran (Bruehl 1987; Katznelson *et al.* 1962).

Rhizosphere dapat dibedakan atas dua, yaitu daerah permukaan akar (*rhizoplant*) dan sebelah luar dari akar itu sendiri (*endorhizosphere*) (Wood dan Stevens 1996). Selain menghasilkan efek biologi, akar juga mempengaruhi sifat kimia dan sifat fisika tanah sehingga secara tidak langsung mempengaruhi mikroorganisme tanah. Bruehl (1987) menambahkan bahwa *rhizoplant* sebagai habitat khusus atau lokasi aktivitas mikrobial. Area permukaan akar yang disebut sebagai daerah *rhizoplant* akar merupakan tempat terjadinya aktivitas biologi yang tinggi serta memiliki sensitivitas yang tinggi terhadap pengaruh akar pada mikroflora dan mikrofauna tanah. Analisa terhadap struktur halus atau lapisan epitel dari perakaran tanaman setelah diinokulasi dengan bakteri khusus menunjukkan bahwa bakteri menjadi lekat pada permukaan perakaran dengan bantuan dari lapisan eksternal yang bersifat musilagen atau disebut 'musigel' yang secara normal terdapat pada sistem perakaran yang sedang aktif tumbuh (Gambar 1).

Populasi mikrobial di sekitar *rhizosphere* sangat penting untuk dijaga sebab keberadaan mikroba tersebut dapat memelihara kesehatan akar, pengambilan nutrisi atau unsur hara, dan dapat membantu tanaman toleran terhadap cekaman

lingkungan. Salah satu mikroorganismenya yang menguntungkan adalah *Actinomycetes* dan dapat menjadi komponen yang signifikan dalam pengelolaan untuk mendapatkan menjadi daerah permukaan akar (*rhizoplane*). Umumnya *rhizosphere* dari kebanyakan tanaman mengandung bakteri gram negatif, tidak berspora, berbentuk batang, dan terdapat pada daerah *rhizoplane*. Beberapa genus bakteri ini adalah *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Agrobacterium*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Flavobacterium*, *Cellulomonas*, dan *Micrococcus* ditemukan dalam jumlah yang banyak, tetapi ada juga yang tidak ditemukan sama sekali.



Gambar 1 Musigel area *rhizoplane*
(dimodifikasi dari: Maier *et al.* 2009)

Bakteri yang membutuhkan asam amino lebih banyak terdapat di daerah *rhizoplant* dan daerah *rhizosphere* dibandingkan tanah di luar *rhizosphere*. *Actinomycetes* penghasil antibiotik lebih banyak terdapat dalam *rhizosphere* dibandingkan tanah tanpa *rhizosphere*. *Rhizosphere* dapat mengalami perubahan yang diakibatkan, antara lain, (1) penambahan tanah; (2) pemberian nutrisi melalui daun; dan (3) inokulasi artifisial biji atau tanah yang mengandung sediaan mikroorganisme hidup, terutama bakteri (Bruehl 1987).

Banyak penelitian menemukan bahwa senyawa-senyawa yang disemprotkan ke daun ditemukan kembali dalam cairan yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman. Bahan-bahan kimia yang diaplikasikan pada daun dapat meningkatkan atau menurunkan aktivitas mikroflora dalam *rhizosphere*. Inokulan benih mikrobial seperti *Azotobacter*, *Beijerinckia*, *Rhizobium* atau mikroorganisme pelarut-P mungkin dapat membantu menciptakan adanya mikroorganisme yang menguntungkan di dalam *rhizosphere* yaitu tepat di sekitar akar yang sedang tumbuh. Jumlah *rhizosphere* meningkat pada tanah-tanah yang kering dibandingkan pada tanah-tanah basah. Temperatur dan kelembaban secara langsung berpengaruh terhadap mikroorganisme, dan secara tidak langsung terhadap tanaman. Pengaruh tidak langsung inilah yang kelihatannya lebih penting. Beberapa organisme secara nyata dapat langsung beradaptasi dengan *rhizosphere*, namun dalam keberhasilannya membentuk koloni dengan akar dipengaruhi oleh adanya kompetisi dengan

organisme lain dan kondisi tanamannya (Bruehl 1987). Ketergantungan satu mikroorganisme terhadap mikroorganisme lain dalam hal produk ekstra-selular, terutama asam amino dan faktor perangsang pertumbuhan, dapat dianggap sebagai suatu efek asosiatif dalam *rhizosphere*.

Beberapa penelitian menunjukkan adanya peningkatan kandungan asam amino dalam tanaman yang ditumbuhkan pada tanah yang diinokulasi dengan mikroorganisme khusus. Pengamatan serupa dilakukan dalam hal pengaruhnya terhadap peningkatan Vitamin-B, auksin, giberelin, dan antibiotik. Diketahui bahwa senyawa giberelin dan yang serupa giberelin dihasilkan oleh genus-genus bakteri yang umumnya dijumpai di dalam *rhizosphere*, seperti *Azotobacter*, *Arthrobacter*, *Pseudomonas* dan *Agrobacterium*. Sekresi antibiotik oleh mikroorganisme dan penghambatan pertumbuhan secara biologis terhadap mikroorganisme lain yang peka, ditemukan terjadi baik dalam penanaman di lapangan maupun dalam kultur murni. Efek antagonistik dalam *rhizosphere* ini diharapkan terjadi secara alami bahkan dalam tanah yang tidak dibudidayakan. Namun, dari segi agronomi adanya penghambatan yang berlebihan terhadap pertumbuhan *Azotobacter* atau *Rhizobium* di daerah perakaran akan menyebabkan penurunan fiksasi nitrogen atau pembentukan bintil akar.

2.1.4 *Rhizobacteria*

Rhizobacteria adalah kelompok bakteri yang ditemukan pada permukaan akar (*rhizosphere*) dan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman (Bashan dan De-Bashan 2010). *Rhizobacteria* dikenal sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) karena memiliki pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan tanaman, baik secara langsung maupun tidak langsung. Bakteri ini memiliki kemampuan menghasilkan hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) yang berperan sebagai pemacu pertumbuhan tanaman, menghasilkan eksopolisakarida sebagai bentuk adaptasi dari cekaman kekeringan, melarutkan fosfat tanah, menghasilkan ACC-deaminase (*Amino Cyclepropane Carboxilate Deaminase*) dan berperan sebagai agen biokontrol fungi patogen (Dey *et al.* 2004; Husen *et al.* 2011; Kaci *et al.* 2005). Keberadaan PGPR ini di dalam tanah bisa diidentifikasi.

2.2 *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)

Rhizobacteria adalah bakteri yang hidup di lingkungan sistem perakaran tanaman dan terdapat interaksi antara *Rhizobacteria* dengan inangnya adalah dengan cara memanfaatkan eksudat dari zat-zat yang dikeluarkan oleh akar seperti asam amino, gula, fenolat dan protein (Bhawsar 2011). Beberapa genus *Rhizobacteria* yang berfungsi sebagai biokontrol dan mampu memacu pertumbuhan tanaman sebagai hasil dari metabolisme sekunder dari interaksi dengan inang tanaman seperti *Rhizobium*, *Bradyrhizobium spp*, *Acetobacter spp*,

Enterobacter spp, *Azotobacter spp*, *Azospirillum spp*, *Bacillus spp*, *Proteus*, *Burkholderia spp*, *Serratia* dan *Pseudomonas spp*.

Rhizobacteria mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman sehingga disebut sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Oleh karena itu, PGPR dapat difungsikan sebagai bakteri bermanfaat yang mengkolonisasi akar (Dewi 2007). Sebagaimana penemuan (Kloepper dan Beauchamp 1992) yang menemukan bahwa keberadaan bakteri yang hidup di sekitar akar ini mampu memacu pertumbuhan tanaman jika diaplikasikan pada bibit atau benih.

Bakteri *Rhizobium spp*, *Azotobacter spp*, *Azospirillum spp* dan bakteri pelarut fosfat mempunyai peran dan fungsi penting dalam mendukung terlaksananya pertanian ramah lingkungan melalui berbagai proses, seperti dekomposisi bahan organik, mineralisasi senyawa organik, fiksasi hara, pelarut hara, nitrifikasi dan denitrifikasi (Saraswati dan Sumarno 2008). *Rhizobium (root nodulating bacteria)* adalah bakteri yang mampu menambat nitrogen dari udara melalui simbiosis dengan membentuk bintil akar pada tanaman Leguminoceae (Kyuma 2004). *Azospirillum spp* dan *Azotobacter spp* merupakan bakteri nonsimbiotik yang berasosiasi dengan berbagai tanaman serta mampu menambat nitrogen bebas dari udara sehingga unsur N tersedia bagi tanaman dan dapat menghasilkan hormon pertumbuhan seperti IAA. *Azospirillum spp* selain mampu menambat nitrogen dan menghasilkan hormon pertumbuhan, juga mampu merombak bahan organik (selulosa, amilosa, dan

bahan organik yang mengandung sejumlah lemak dan protein) di dalam tanah (Nursoid 2008). Bakteri lain yang dapat memproduksi IAA adalah bakteri pelarut fosfat (BPF) seperti genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Cerratia* (Widawati 2014).

Plant Growth Promoting Rhizobacteria mempunyai peranan ganda disamping menambat N_2 , juga menghasilkan hormon tumbuh (seperti IAA, gibberelin, sitokinin, etilen, dan lain-lain) menekan penyakit tanaman dengan memproduksi siderofor, glukonase, kitinase, sianida dan melarutkan P dan hara lainnya (Kloepper *et al.* 1988). Pengaruh PGPR secara langsung dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman terjadi melalui bermacam-macam mekanisme, diantaranya fiksasi nitrogen bebas sehingga dapat dimanfaatkan oleh tanaman, produksi siderofor yang mengkhelat besi (Fe) dan membuatnya tersedia bagi akar tanaman, melarutkan mineral seperti fosfor dan sintesis fitohormon (Dewi 2007). Selanjutnya dikatakan bahwa pengaruh PGPR secara tidak langsung dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman terjadi melalui penekanan dari fitopatogen yang dilakukan melalui mekanisme yang berbeda. Ini termasuk kemampuan dalam memproduksi siderofor yang mengkhelat Fe, menjadikannya tidak tersedia bagi patogen; kemampuan dalam mensintesis metabolit anti jamur seperti antibiotik, hidrogen sianida (HCN) sehingga mampu menekan pertumbuhan patogen jamur dengan kemampuannya untuk bersaing secara sukses dengan patogen untuk nutrisi, unsur hara atau tempat khusus dalam perakaran tanaman. Manfaat yang tidak kalah pentingnya

dari PGPR adalah mampu menekan pertumbuhan *Rhizobacteria* patogen tanaman. Ada dua mekanisme dalam menekannya, yaitu memacu pertumbuhan tanaman sehingga tanaman lebih sehat dan tidak mudah diserang oleh patogen dan menghasilkan metabolit tertentu seperti antibiotik, siderofor dan HCN yang dapat membunuh patogen.

Menurut Gardner *et al.* (1991), tanaman inang bagi bakteri PGPR memiliki kisaran yang cukup luas, di antaranya adalah tanaman kedelai dengan strain *Pseudomonas putida* mengkolonisasi akar lateral dan akar utama tanaman kedelai (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam kultur hidroponik. Peningkatan kadar lignin dalam akar, bobot tanaman meningkat dalam perlakuan *P. putida* setelah diinokulasi dengan *Fusarium solani* f. sp.

Mekanisme PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman dapat terjadi melalui tiga cara (Amalia 2007), yaitu sebagai berikut.

1. Menekan perkembangan hama/penyakit (*bioprotectant*): mempunyai pengaruh langsung pada tanaman dalam menghadapi hama dan penyakit;
2. Memproduksi fitohormon (*biostimulant*): IAA (*Indole Acetic Acid*), Sitokinin, Giberellin, dan penghambat produksi etilen sehingga dapat menambah luas permukaan akar-akar halus;
3. Meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman (*biofertilizer*): apabila penyerapan unsur hara dan air yang

lebih baik dan nutrisi tercukupi, maka menyebabkan pertumbuhan tanaman juga semakin baik sehingga akan semakin meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan-tekanan, baik tekanan biologis (OPT) maupun nonbiologis (iklim).

Desmawati (2008) menjelaskan beberapa fungsi PGPR, antara lain, (a) Menambah fiksasi nitrogen pada tanaman kacang-kacangan; (b) Memacu pertumbuhan bakteri fiksasi nitrogen bebas; (c) Meningkatkan ketersediaan nutrisi lain, fospat, belerang, besi dan tembaga; (d) Memproduksi hormon tanaman; dan (e) Menambah bakteri dan cendawan yang menguntungkan.

2.2.1 Bakteri sebagai Biostimulan

Actinomyces sebagai cendawan endofit berpotensi sebagai biofertilizer. Keberadaan cendawan endofit di alam sangat beragam dan berlimpah sebab dapat ditemukan pada tanaman pertanian maupun rumputan (Faeth 2002). Salah satu potensi *Actinomyces* adalah kemampuan menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti *Auxin* dan *Gibberellic Acid*.

Sejalan dengan yang dikemukakan (Hanafiah *et al.* 2005) bahwa pengaruh zat pengatur tumbuh sangat besar terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman walaupun zat pengatur tumbuh dan vitamin tersebut dibutuhkan dalam jumlah sedikit. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa mikroba tersebut sangat penting perannya dalam pertumbuhan dan peningkatan produksi tanaman. Bakteri dan fungi telah diketahui memiliki kemampuan

mensistensis hormon tumbuh seperti *indole-3-acetic acid* (IAA dan senyawa *indole* lainnya (Chung *et al.* 2003), jenis jamur juga diketahui dalam menghasilkan Auksin dalam kultur axenik (Buckley dan Pugh 1971; Gruen 1959; Maor *et al.* 2004).

III HORMON TUMBUH

3.1 Hormon Tumbuh Auksin

Auksin merupakan salah satu jenis zat pengatur tumbuh yang dapat memacu pertumbuhan tanaman dengan cara memacu pembelahan sel atau proses elongasi sel-sel bagian tanaman seperti akar dan memodifikasi tanaman (fungsi morfologi) sehingga mempercepat penyerapan hara dari tanah (Ryu dan Patten 2008), membantu perpanjangan sel dan perpanjangan batang untuk differensiasi sel (El-Tarabily 2003).

Spesies bakteri yang telah diketahui mampu memproduksi Auksin, interaksi antara mikroba penghasil IAA dan *host* tanaman memperlihatkan hasil yang bervariasi, terdiri atas variasi pathogenesis sampai ke fitostimulasi. Interaksi mikroba dan tanaman berbeda-beda tergantung cara kolonisasi mikroba tersebut, demikian halnya dengan fitostimulasi yang merupakan dasar mekanisme perlindungan tanaman. Dalam keterkaitannya sebagai salah satu fitostimulasi telah dilaporkan oleh Spaepen *et al.* (2007), bahwa IAA dapat memberikan sinyal molekul pada bakteri sehingga memberikan efek fisiologis secara langsung ke tanaman.

3.2 Hormon Tumbuh Giberelin

Giberelin adalah suatu golongan ZPT yang berfungsi merangsang pembelahan sel, pemanjangan sel, dan fungsi pengaturan lain. Giberelin telah terbukti terlibat dalam banyak proses fisiologi tumbuhan, namun marga dan jenis tanaman, serta faktor-faktor lain akan menentukan giberelin yang paling efektif meningkatkan respon tertentu. Beberapa jenis respon yang diatur oleh giberelin, antara lain, pertumbuhan batang, pembungaan, perkecambahan biji, dormansi, *senescense*, partenokarpi, pembentukan buah, menunda pematangan dan pematangan buah (Harjadi 2009).

Giberelin sebagai salah satu hormon tumbuh yang dapat membantu proses pemecahan masa dormansi, perkecambahan biji, pertumbuhan batang, pembentukan buah, menunda dan mematangkan buah dan juga membantu proses *senescence* dan partenokarpi (Harjadi 2009). Hormon tumbuh sangat diandalkan sebagai suatu zat yang merangsang pembelahan sel, pemanjangan sel dan fungsi pengaturan dalam banyak proses fisiologi tanaman.

Peranan penting dalam mengontrol proses-proses perkembangan tanaman yang seperti perkecambahan, pemanjangan sel, dan perkembangan bunga dan benih adalah giberelin memacu sintesis dan sekresi jumlah enzim hidrolitik yang berperan dalam proses penguraian protein, pati, lemak, dinding sel, dan asam nukleat dalam endosperm (Lakitan 1996).

Beberapa penelitian yang fokus pada peranan giberelin pada interaksi antara tanaman dan mikroba telah banyak dilakukan seperti pemberian giberelin dapat memacu pertumbuhan dan produksi padi sawah (Sari 2005). Pengaplikasian giberelin konsentrasi 2 ppm per liter memberikan hasil nyata mempercepat umur berbunga, mendorong keserempakan juga meningkatkan baik hasil gabah ubinan maupun hasil gabah/ha sebesar 16,4%. Waktu aplikasi di awal pertumbuhan (saat perendaman benih, menganak dan inisiasi malai) nyata meningkatkan indeks luas daun, sedangkan aplikasi di akhir masa pertumbuhan (inisiasi malai dan *heading*) nyata meningkatkan panjang malai dan jumlah gabah per malai.

Pemberian 100 ppm GA dapat mengurangi kerontokan buah pada tanaman cabai (Haryanti dan Santoso 2000). Selain itu, aplikasi GA 100 ppm dan 200 ppm belum dapat mengurangi kerontokan buah cabai dalam pot. Hal ini terjadi karena pemberian GA dapat menghambat pertumbuhan generatif tanaman dan pada aplikasi 100 ppm GA3 menunjukkan persentase kerontokan buah sebesar 37,22% (Sari 2010).

IV TANAMAN KEDELAI

4.1 Pertumbuhan Tanaman Kedelai

Kedelai merupakan tanaman yang memiliki akar primer tunggang dan sekunder serabut. Pada akar tanaman kedelai terdapat bintil akar yang telah diketahui bahwa bintil akar terbentuk karena adanya proses interaksi mutualistik antara kedelai dengan bakteri *Rhizobium japonicum* yang mampu mengikat gas nitrogen bebas (N_2) dari udara. Proses interaksi simbiosis ini menguntungkan tanaman kedelai karena sebagian hara nitrogen diperoleh langsung dari alam untuk pertumbuhan dan perkembangannya dan secara tidak langsung menyebabkan tanah tempat tumbuh tanaman kedelai menjadi subur (Purwono dan Purnamawati 2007).

Rukmana dan Yuniarsih (1996) menyatakan kedelai memiliki syarat untuk tumbuh dan berproduksi dengan baik pada ketinggian tidak lebih dari 500 m di atas permukaan laut, namun ada beberapa varietas kedelai mampu beradaptasi pada ketinggian ± 1200 m di atas permukaan laut. Pada umumnya kondisi lingkungan yang dapat ditanami kedelai adalah suhu 28–39 °C dan kelembaban udara (RH) rata-rata 60–70%.

Pertumbuhan tanaman kedelai terdiri atas dua fase, yaitu pertumbuhan vegetatif dan generatif. Pertumbuhan vegetatif dan

generatif memiliki ciri yang berbeda. Untuk pertumbuhan vegetatif lebih ke arah tinggi dan jumlah organ pada tanaman seperti terbentuknya daun dan cabang, sedangkan pertumbuhan generatif lebih ke arah pembentukan baik biji maupun buah (Gardner *et al.* 1991).

4.2 Pertumbuhan Fase Vegetatif dan Generatif

Fase vegetatif tanaman merupakan fase berkembangnya bagian vegetatif tanaman kedelai. Pada fase vegetatif mencakup pertumbuhan akar, batang, dan daun. Dalam fase ini tanaman memerlukan banyak cadangan makanan (karbohidrat) yang akan dirombak menjadi energi untuk pertumbuhan. Fase vegetatif merupakan pertumbuhan pada tanaman dimulai sejak munculnya *plumule* di permukaan tanah sampai tanaman mulai berbunga (Adisarwanto 2007). Fase pertumbuhan vegetatif akan mengalami penambahan dan perkembangan sel sehingga pertumbuhan tanaman setiap harinya mengalami peningkatan. Pertumbuhan fase vegetatif setiap tanaman berbeda pada setiap tingkatan stadia pertumbuhan vegetatif dan generatif (Tabel 1 dan 2).

Tabel 1 Penanda pertumbuhan vegetatif kedelai

Singkatan Stadia	Tingkatan stadia	Keterangan
VE	Stadia pemunculan	Kotiledon muncul ke permukaan
VC	Stadia kotiledon	Daun <i>unfoliolat</i> berkembang, tepi daun tidak menyentuh tanah
VI	Stadia buku pertama	Daun terbuka penuh pada buku <i>unfoliolat</i> .

V2	Stadia buku kedua	Daun <i>trifoliolat</i> terbuka penuh pada buku kedua di atas buku <i>unfoliolat</i> .
V3	Stadia buku ketiga	Pada buku ketiga batang utama terdapat daun yang terbuka penuh
Vn	Stadia buku ke-n	Pada buku ke-n batang utama telah terdapat daun yang terbuka penuh.

Sumber: (Adisarwanto 2007)

Tabel 2 Penanda pertumbuhan generatif kedelai

Singkatan Stadia	Tingkatan stadia	Keterangan
R1	Mulai berbunga	Munculnya bunga pertama pada buku mana pun pada batang utama
R2	Berbunga penuh	Bunga terbuka penuh pada satu atau dua buku paling atas pada batang utama dengan daun yang telah terbuka penuh
R3	Mulai berpolong	Polong telah terbentuk dengan panjang 0,5 cm pada salah satu buku batang utama
R4	Berpolong penuh	Polong telah mempunyai panjang 2 cm pada salah satu buku teratas pada batang utama
R5	Mulai berbiji	Ukuran biji dalam polong mencapai 3 mm pada salah satu buku batang utama
R6	Berbiji penuh	Setiap polong pada batang utama telah berisi biji satu atau dua
R7	Mulai masak	Salah satu warna polong pada batang utama telah berubah menjadi cokelat kekuningan atau warna masak
R8	Mulai penuh	95% jumlah polong telah mencapai warna masak

Sumber: (Adisarwanto 2007)

V TEKNIK ISOLASI DAN APLIKASI MIKROBA

Teknik isolasi dan identifikasi dilakukan secara bertahap yang terdiri atas empat tahap, yaitu: (1) isolasi, karakterisasi morfologi dan mengidentifikasi isolate; (2) menganalisis kemampuan isolat memfiksasi nitrogen dan melarutkan fosfat; (3) menganalisis kemampuan isolat memproduksi IAA, GA dan siderofor; dan (4) aplikasi inokulasi terhadap pertumbuhan dan perkembangan kedelai.

5.1 Isolasi, Karakterisasi Morfologi dan Identifikasi Isolat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel tanah dan akar tanaman kedelai yang sehat yang berasal dari tiga lokasi, yaitu Takalar, Soppeng, dan Wajo. Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam pengisolasian seperti YEMA (*Yeast Ekstract Mannitol Agar*) dan TWYE (*Tap Water Yeast Ekstract*), media Natrium Broth, Media Natrium Agar, media King's B, media YDC, media Burk bebas nitrogen, media Pikovskaya, aquades, alkohol 70%, KHO, HCl, air steril, alumunium foil, kantong plastik transparan, plastik *cling pack transparant*, karet gelang, media tanah, *polybag*, pupuk NPK, pupuk kandang, benih kedelai, pupuk NPK, pupuk urea, kertas saring, kapas, dan label.

Alat pengujian terdiri atas mortar, cawan petri, tabung reaksi, Erlenmeyer, pipet tetes, jarum ose, spatula, pembakar bunsen, entkas, laminar air flow, gelas piala, gelas ukur, objek gelas, rak tabung, alat suntik, timbangan analitik, pengaduk elektronik, alat semprot, pH meter, lampu UV, kamera digital, mikroskop binokuler, spektrofotometer, dan mesin kjelteck. Sifat morfologi, fisiologi mikoriza dan biostimulan LOr-RF serta kedelai varietas wilis. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *polybag*, kertas label, ember, cangkul, gunting, mistar, timbangan, gelas ukur, kamera dan alat tulis menulis.

5.1.1 Pengambilan sampel

Tanaman kedelai yang berumur tujuh minggu dan sehat dikumpulkan dari pertanaman kedelai di Sulawesi Selatan (Gambar 2). Sebanyak enam tanaman digali dengan hati-hati untuk memastikan bahwa sistem akar utuh dan jumlah maksimal bahan akar dikumpulkan.

Sampel tanah diambil dengan cara mengambil tanah di sekitar perakaran (*rhizosphere*). Tanah yang masih melekat pada akar dipisahkan dengan cara digoyang sehingga yang melekat pada akar hanyalah butiran-butiran kecil tanah. Sampel tanah diambil sebanyak 100 g pertanaman selanjutnya disimpan dalam plastik lalu dimasukkan ke dalam termos es dengan suhu 4 °C agar aktivitas mikroba tidak menurun dan populasi mikroorganisme pada sampel tidak berubah.



Gambar 2 Peta lokasi pengambilan sampel

5.1.2 Tahapan Koleksi Isolat

Tanaman yang dicuci dengan menggunakan air kran untuk membersihkan semua tanah yang menempel pada akar tanaman, kemudian disterilisasi permukaannya. Semua bagian akar tanaman direndam dalam 99% etanol selama 60 detik, diikuti dengan membenamkan 6 menit dalam 3,125% NaOCl dan mencuci 30 detik dalam 99% etanol. Bagian tanaman permukaan disterilkan dibilas atau disterilkan dengan menggunakan air dan aseptik bagian tanaman dibelah menjadi fragmen panjang 1 cm. Selanjutnya, fragmen tanaman didistribusikan ke media isolasi spesifik yaitu TWYE dan YEMA diinkubasi pada suhu 27 °C

hingga 4 minggu, kemudian dilakukan pengamatan akan munculnya koloni-koloni *Actinobacteria* endofit. Koloni kemudian dipindahkan dengan menggunakan jarum steril dan digoreskan pada media subkultur yaitu media Natrium Broth.

Isolasi dan identifikasi mikroba dilakukan terhadap beberapa sampel tanah yang diambil dari beberapa sentra pertanian kedelai di Sulawesi Selatan yaitu Bone, Soppeng dan Takalar. Cara pengambilan sampel tanah dilakukan pada daerah sekitar perakaran (*rhizosphere*) tanaman kedelai sehat.

Sampel tanah dibawa ke laboratorium, kemudian diencerkan hingga 10^{-6} untuk keperluan isolasi. Isolasi dilakukan dengan cara yang ada dalam cawan petri kemudian diratakan dengan menggunakan spatula dan selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam. Setelah 24 jam, diamati jenis bakteri yang tumbuh berdasarkan warna dan bentuk koloninya.

Bakteri yang tumbuh pada media spesifik TWYE dan YEMA dipindahkan ke media Natrium Broth dan dimurnikan sebanyak lima kali. Pemurnian dilakukan dengan cara mengambil semua jenis mikroba yang telah tumbuh dan dipisahkan lalu masing-masing ditumbuhkan pada media NA yang berbeda. Pemurnian bakteri yaitu mengambil koloni tunggal yang telah tumbuh, kemudian tiap koloni digores zig-zig di atas media NA dan diinkubasikan selama 24 jam. Semua isolat yang sudah murni dikoleksi dan dipelihara di dalam media Natrium Broth untuk keperluan identifikasi dan pengujian selanjutnya.

5.1.3 Parameter Pengamatan

5.1.3.1 Morfologi Koloni

Untuk mengetahui bentuk-bentuk morfologi bakteri dilakukan pengamatan morfologi, yaitu: tepi koloni, permukaan koloni, bentuk sel koloni, dan warna koloni. Biakan murni isolat yang tumbuh pada media selektif *Actinomyces* dan *Rhizobium* setelah ditumbuhkan selama 24 jam dilakukan pengamatan morfologinya.

5.1.3.2 Uji Reaksi Gram

Uji reaksi gram dilakukan untuk mengetahui dan membedakan spesies bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara mengambil biakan murni kemudian digoreskan dengan jarum ose dan dioleskan pada gelas objek yang telah ditetesi larutan KOH 3% dan diaduk. Koloni yang nampak berlendir memperlihatkan reaksi positif (gram negatif), sedangkan yang tidak berlendir memperlihatkan reaksi negatif (gram positif).

5.1.3.3 Uji Kemampuan Fiksasi Nitrogen

Pengujian kemampuan bakteri mengikat nitrogen bebas dilakukan dengan inokulasi pada media Burk's N-bebas. Apabila isolat mampu tumbuh, berarti isolat tersebut mempunyai kemampuan mengikat nitrogen bebas untuk pertumbuhannya. Isolat bakteri ditumbuhkan ke dalam media agar Burk Nitrogen Bebas selama 24 jam pada 28 ± 2 °C (Park *et al.* 2005). Nilai pH media diatur menjadi $7,0 \pm 0,1$ sebelum diautoklaf pada 121 °C selama 15 menit.

Jumlah N_2 yang difiksasi oleh isolat bakteri ditetapkan dengan menumbuhkan bakteri pada media cair Burk's N-bebas dan ditempatkan pada *shaker* orbital selama 24 jam pada suhu 28 ± 2 °C (Park *et al.* 2005). Uji penambahan nitrogen untuk menghitung kandungan total N dari foltrat kultur ditentukan dengan metode Kjehdahl (Rao dan Subba 2010).

Sampel kultur isolat bakteri dimasukkan ke dalam media cair Burk's N-bebas ke dalam tabung *digestion* sebanyak 5 mL lalu ditambahkan 1 g campuran selenium dan 3 ml asam sulfat pekat, didestruksi hingga suhu 350 °C (3–4 jam). Destruksi selesai bila keluar uap putih dan diperoleh ekstrak jernih (sekitar 4 jam). Tabung diangkat, didinginkan dan kemudian ekstrak diencerkan dengan *aquades* hingga tepat 50 mL lalu dikocok sampai homogen, dibiarkan semalam agar partikel mengendap. Ekstrak digunakan untuk pengukuran N dengan cara destilasi.

Pengukuran secara kualitatif, seluruh ekstrak contoh dipindahkan ke dalam labu didih (digunakan air bebas ion dan labu semprot) lalu disiapkan penampung untuk NH_3 yang dibebaskan yaitu Erlenmeyer yang berisi 10 mL asam borat 1% yang ditambah tiga tetes indikator Conway (berwarna merah) dan dihubungkan dengan alat destilasi. Dengan gelas ukur, ditambahkan NaOH 40% sebanyak 10 mL ke dalam labu didih yang berisi contoh dan secepatnya ditutup. Didestilasi hingga volume penampung mencapai 50–75 mL (berwarna hijau). Destilasi titrasi contoh (V_c) dan blanmo (V_b) kemudian hitung kadar nitrogen (%) dengan menggunakan rumus:

$$\text{Kadar Nitrogen (\%)} = (V_c - V_b) \times N \times \text{bst} \times 100 \text{ mg}$$

dengan:

V_c, b = mL titrasi contoh dan blanko

N = normalitas larutan baku H_2SO_4

bst = bobot setara nitrogen

100 = konversi ke %

5.1.3.4 Uji Kemampuan Pelarutan Fosfat

Pengujian kemampuan bakteri melarutkan fosfat dilakukan dengan inokulasi pada media Pikovskaya yang ditambahkan bromfenol blue 0,01 g/L dan diinkubasikan selama 5 hari pada suhu 28 ± 2 °C (Chen *et al.* 2006). Isolat yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat ditandai oleh terbentuknya *halozone* (zona bening) di sekitar koloni. Efisiensi melarutkan fosfat (E) dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut (Nguyen *et al.* 1992).

Efisiensi Melarutkan Fosfat (E)

$$= \frac{\text{Diameter Kelarutan}}{\text{Diameter Pertumbuhan (G)}} \times 100$$

5.1.3.5 Analisis Kemampuan Isolat Memproduksi IAA, GA3, dan Siderofor

Pengujian dilaksanakan dalam bentuk analisis laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan isolat memproduksi IAA, GA, dan Siderofor. Kegiatan ini dilakukan di Laboratorium Bioteknologi, Pusat Kegiatan Penelitian (PKP) dan di Laboratorium Biofarmaka Universitas Hasanuddin, Makassar.

Bahan yang digunakan adalah sampel tanah, media NA, alkohol 70%, glukosa 10 g, Ca_3HPO_4 5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,5 g, KCL 0,2 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g, ekstrak khamir 0,5 g, MnSO_4 25 mg, dan FeSO_4 25 mg serta agar-agar *Bacto* 20 g dalam 1 liter *aquades*. Larutan KOH, larutan HCL, gula pasir, air steril (*aquades*), Sukrosa 20 g, K_2HPO_4 0,05 g, KH_2PO_4 0,15 g, CaCl_2 0,01 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,20 g, $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2 mg, bromtimol biru (0,5% dalam etanol) 2 mL, CaCO_3 1 g, agar 15 g, aluminium foil, plastik transparan, plastik Cling pack transparan, karet gelang, kertas saring, kapas, dan label.

Alat yang digunakan adalah mortar, cawan petri, tabung reaksi, erlenmeyer, pipet tetes, jarum ose, spatula, pembakar bunzen entkas, laminar air flow, gelas piala, gelas ukur objek gelas, timbangan analitik, pengaduk elektronik, oven listrik, timbangan listrik, tali rafia, gelas ukur, gelas piala, spoit, talang plastik, mistar, cawan petri, air, dan label.

5.1.3.6 Uji Produksi Zat Pengatur tumbuh Auksin

Penyeleksian untuk produksi IAA oleh isolat *rhizobacteria* dilakukan dengan penambahan L-tryptofan menggunakan metode kolorimetri. Jika L-tryptofan adalah prekursor, akan memberikan laju produksi IAA yang lebih tinggi (Farzana *et al.* 2009).

Produksi auksin oleh bakteri dideteksi dengan menggunakan metode modifikasi El-Mahrouk dan Belal (2007) dan Zakry *et al.* (2010). Bakteri yang telah tumbuh disentrifugasi pada 3000 rpm selama 30 menit. Supernatant (2 mL) dicampur

dengan dua tetes ortofosfat asam dan 4 mL reagen Salkowskim (50 mL, 35 dari asam sulfat, 1 mL 0,5 M larutan FeCl_3) dan diinkubasikan selama 24 jam. Perubahan warna menjadi *pink* menunjukkan produksi IAA. Densitas optik diambil pada 530 nm menggunakan spektrofotometer. Konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh bakteri diukur dengan menggunakan kurva standar IAA (Sigma-Aldrich) yang diperoleh pada kisaran 1–10 mg/mL.

5.1.3.7 Uji Produksi Zat Pengatur Tumbuh Giberelin (GA3)

Produksi asam giberelin oleh mikroorganisme menguntungkan di bidang pertanian ditentukan dengan mengikuti metode Borrow *et al.* (1955). Disiapkan sebanyak 100 mL nutrient broth (NB) steril kemudian masukkan sampel isolat bakteri dengan jarum ose dan diinkubasi pada 37 °C selama tujuh hari. Setelah tujuh hari inkubasi, kultur disentrifugasi pada 8.000 g selama 10 menit untuk menghilangkan sel-sel bakteri. Pindahkan 15 mL dari kultur itu ke dalam tabung reaksi dan tambahkan 2 potassium ferrocyanide dan disentrifugasi pada 8.000 g selama 10 menit. Pindahkan 5 mL supernatan ke tabung reaksi dan tambahkan 5 mL asam klorida 30%, campuran kemudian diinkubasi pada 27 °C selama 27 menit. Blangko dipersiapkan dengan asam klorida 5%. Absorbansi diukur pada 254 nm dalam spektrofotometer. Konsentrasi asam gibberelin (GA3) yang dihasilkan oleh bakteri diukur dengan menggunakan kurva standar GA3 (Sigma-Aldrich) yang diperoleh pada kisaran 0.25 – 2.25 ppm.

5.1.3.8 Uji Keberadaan Siderofor

Produksi siderofor oleh mikroorganisme menguntungkan di bidang pertanian diestimasi dengan metode yang dijelaskan oleh Reeves *et al.* (1983). Media NB steril disiapkan sebanyak 100 mL dalam 250 mL labu erlenmeyer. Isolat bakteri diinokulasikan dengan jarum ose ke dalam media dan diinkubasi pada 37 °C selama 7 hari. Setelah 7 hari inkubasi, kultur cair disentrifugasi pada 10.000 g selama 20 menit. Supernatan digunakan untuk mengestimasi siderophores. 20 mL kultur supernatan diambil dan pH diatur menjadi 2,0 dengan HCL encer. Untuk 20 mL supernatan, 20 mL etil asetat ditambahkan dan ekstraksi dilakukan dua kali. Siapkan reagen Hathway (1 mL 0,1 M FeCl₂ dan 1 mL 0,1 N HCl ditambahkan ke dalam 100 mL *aquades* dan ditambahkan dengan 5 mL reagen Hathway dan absorbansi diukur pada 560 nm dengan natrium salisilat sebagai standar pada kisaran 0,5–2 ppm untuk estimasi jenis salisilat dari siderophore.

5.2 Identifikasi Mikroba Potensial

Identifikasi terhadap isolat-isolat bakteri yang potensial dilakukan dengan menggunakan metode yang dikembangkan oleh Schaad *et al.* (2001) sebagai berikut.

1. Karakteristik Morfologi; penentuan karakteristik morfologi didasarkan pada bentuk dan warna koloni pada media biakan Nutrien Agar (NA) dan pengamatan pada mikroskop;

2. Karakteristik Fisiologi dan Biokimia; teknik identifikasi bakteri dilakukan dengan cara sebagai berikut. Koloni bakteri dari biakan murni diambil dengan menggunakan jarum ose dan dioleskan pada gelas objek yang telah diberi dua tetes larutan KOH 3% diaduk melingkar selama $\pm 5 - 10$ detik. Koloni yang nampak berlendir memperlihatkan reaksi positif (gram negatif), sedangkan yang tidak berlendir atau terlepas adalah negatif (gram positif).

5.3 Pengaplikasian Mikroba pada Tanaman

Kegiatan dilaksanakan dalam bentuk percobaan, yaitu: (1) menganalisis pengaruh *Rhizobium* terhadap pertumbuhan, produksi, tingkat ketersediaan hara dan efektivitas serapan hara tanaman kedelai, (2) menganalisis pengaruh *Actinomycetes* terhadap pertumbuhan, produksi, tingkat ketersediaan hara dan efektivitas serapan hara tanaman kedelai, dan (3) menganalisis pengaruh interaksi inokulasi *Actinomycetes* dan *Rhizobium* terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman kedelai di lapang.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benih kedelai varietas Anjasmoro, media tanam yang digunakan adalah tanah top soil yang sebelumnya dianalisis karakteristik kesuburannya di Laboratorium Ilmu Tanah Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, *Actinomycetes*, *Rhizobium*, dan pupuk kandang. Alat yang digunakan adalah timbangan, ember plastik (wadah media tanam), cangkul, label, gelas ukur, meteran, mistar geser, CCM-200 plus, CI 710 miniatur leaf spectrofotometer, LCI

(*leaf chamber Analysis System*). Pelaksanaan dilakukan dengan menggunakan rancangan acak kelompok pola faktorial yang terdiri atas dua faktor.

5.4 Inokulasi *Actinomycetes* dan *Rhizobium*

Inokulasi *Actinomycetes* (A) sebagai faktor pertama terdiri atas tanpa inokulasi (a_0), inokulasi 3.25×10^7 CFU/mL (a_1), inokulasi 3.25×10^8 CFU/mL (a_2), 3.25×10^9 CFU/mL (a_3). Inokulasi *Rhizobium* (R) sebagai faktor kedua yang terdiri atas tiga taraf, yaitu inokulasi (r_1) 4.25×10^8 CFU/mL, (r_2) 4.25×10^9 CFU/mL, (r_3) 4.25×10^{10} CFU/mL. Dari dua faktor yang dicobakan maka diperoleh 12 kombinasi perlakuan, setiap unit perlakuan digunakan dua tanaman dan diulang tiga kali sehingga keseluruhan digunakan 72 tanaman. Adapun kombinasi perlakuan sebagai berikut.

a_0r_1	a_1r_1	a_2r_1	a_3r_1
a_0a_2	a_1r_2	a_2r_2	a_3r_2
a_0r_3	a_1r_3	a_2r_3	a_3r_3

Susunan kombinasi perlakuan sebagai berikut.

a_0r_1	=	Tanpa <i>Actinomycetes</i> dan 4.25×10^8 cfu/mL <i>Rhizobium</i>
a_0r_2	=	Tanpa <i>Actinomycetes</i> dan 4.25×10^9 CFU/mL <i>Rhizobium</i>
a_0r_3	=	Tanpa <i>Actinomycetes</i> dan 4.25×10^{10} CFU/mL <i>Rhizobium</i>
a_1r_1	=	3.25×10^7 CFU/mL <i>Actinomycetes</i> dan 4.24×10^8 CFU/mL <i>Rhizobium</i>
a_1r_2	=	3.25×10^7 CFU/mL <i>Actinomycetes</i> dan 4.25×10^9 CFU/mL <i>Rhizobium</i> .

$$\begin{aligned}
 a_{1r_3} &= 3.25 \times 10^7 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^{10} \text{ CFU/mL } Rhizobium. \\
 a_{2r_1} &= 3.25 \times 10^8 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^8 \text{ cfu/mL } Rhizobium. \\
 a_{2r_2} &= 3.25 \times 10^8 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^9 \text{ CFU/mL } Rhizobium. \\
 a_{2r_3} &= 3.25 \times 10^8 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^{10} \text{ CFU/mL } Rhizobium \\
 a_{3r_1} &= 3.25 \times 10^9 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^8 \text{ CFU/mL } Rhizobium \\
 a_{3r_2} &= 3.25 \times 10^9 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^9 \text{ CFU/mL } Rhizobium \\
 a_{3r_3} &= 3.25 \times 10^9 \text{ CFU/mL } Actinomycetes \text{ dan } 4.25 \times 10^{10} \text{ CFU/mL } Rhizobium
 \end{aligned}$$

Untuk menilai pengaruh perlakuan, maka dilakukan pengamatan terhadap beberapa parameter (Y) dengan model analisis pendugaan sebagai berikut.

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Dengan:

$$\begin{aligned}
 Y_{ijk} &= \text{hasil nilai pengamatan untuk faktor A} \\
 &\quad \text{level ke-i, faktor B level ke-j dan pada} \\
 &\quad \text{ulangan ke-k} \\
 \mu &= \text{nilai tengah umum} \\
 \alpha_i &= \text{pengaruh faktor ke-A, level ke-i} \\
 \beta_j &= \text{pengaruh faktor ke-B, level ke-j} \\
 (\alpha\beta)_{ij} &= \text{interaksi AB pada level A ke-i, level} \\
 &\quad \text{B ke-j} \\
 \varepsilon_{ijk} &= \text{Galat percobaan untuk level ke-i (A),} \\
 &\quad \text{level ke-j (B) ulangan ke-k}
 \end{aligned}$$

Hasil pengamatan dilakukan uji ANOVA dan untuk menentukan perlakuan yang terbaik, dilakukan uji lanjutan dengan membandingkan dua nilai rata-rata menggunakan Uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

Tanah yang digunakan diambil dari kebun lahan percobaan Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin, Tamalanrea Makassar, Sulawesi Selatan pada lapisan *top soil* sekitar 0–25 cm, lalu dikeringanginkan, kemudian dicampur pupuk kandang dengan perbandingan 2:1, lalu dimasukkan ke dalam karung untuk proses sterilisasi dengan cara dikukus selama dua jam dan setelah itu dimasukkan *polybag*. Kemudian benih diberikan mikroba sesuai dengan perlakuan. Ember yang telah diisi tanah diatur dengan jarak 40 cm × 25 cm, kemudian diberi label sesuai dengan perlakuan masing-masing.

Sebelum tanam, benih kedelai diinokulasi dengan *Rhizobium* dan *Actinomyces* sesuai dengan perlakuan. Setiap pot ditanami 5 biji benih dengan kedalaman 2 cm dari permukaan tanah kemudian ditutup dengan tanah agak tipis. Sejak penanaman benih sampai tanaman berumur 7 hari disiram dengan volume air yang sama untuk semua tanaman.

Untuk menilai pengaruh perlakuan, maka diamati beberapa parameter sebagai berikut.

1. Parameter pertumbuhan, produksi, tingkat ketersediaan hara pada daerah *rhizosphere*, dan efektifitas serapan hara. Parameter produksi, baik pada percobaan pertama maupun

- pada percobaan *in planta* mulai diamati pada umur 4 minggu setelah tanam, kemudian dilanjutkan setiap 2 minggu sekali;
2. Rata-rata pertambahan luas daun (cm^2), dihitung total luas daun pertanaman pada fase vegetatif I, III, fase reproduksi awal, dan fase pembentukan polong maksimal;
 3. Rata-rata indeks klorofil daun, diamati dengan menggunakan CCI + 200, diamati pada fase pertumbuhan vegetatif III, fase reproduksi awal dan fase pembentukan polong maksimal;
 4. Persentase terbentuknya bintil akar, diamati pada akhir percobaan;
 5. Komponen produksi yang meliputi jumlah cabang reproduksi;
 6. Rata-rata jumlah polong pertanaman, rata-rata bobot biji pertanaman, produksi biji per tanaman.

Teknik pengujian isolat *in planta* dilakukan dengan cara *seed coating* pada benih kedelai dengan dua jenis bakteri yang dipakai, yaitu dengan *Rhizobium* dan *Actinomycetes*. Penanaman dilakukan dalam *polybag* dengan tiga perlakuan.

VI HASIL TERAPAN TEKNOLOGI MIKROBA

6.1 Isolasi dan Karakteristik Morfologi Isolat

Hasil identifikasi isolat secara tentatif diidentifikasi berdasarkan kriteria morfologi tradisional termasuk karakteristik koloni-koloni pada cawan petri, morfologi substrat dan hypa udara, morfologi spora dan pigmen yang dihasilkan (Goodfellow dan Cross 1984) dan juga merujuk pada Bergey's Manual (Noel *et al.* 2011) teridentifikasi 50 isolat dengan karakteristik morfologi yang terdiri atas 35 yang memiliki kesamaan dalam hal bentuk koloni, warna koloni, tepi koloni, permukaan koloni, tingkat pertumbuhan koloni, uji gram, kemampuan membentuk hypa udara, morfologi spora dan pigmen yang diproduksi. Isolat lainnya berjumlah 21 isolat memiliki kesamaan dalam hal bentuk koloni, tepi koloni, uji gram dan pembentukan lendir berbentuk *slime* (Tabel 3).

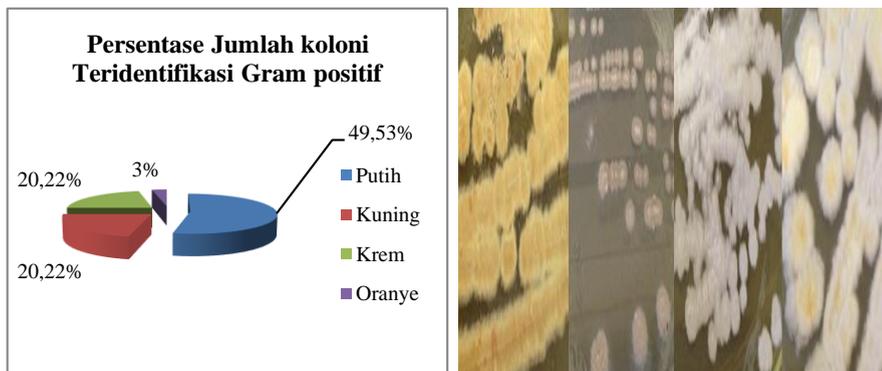
Hasil pengamatan warna koloni (24 jam setelah inkubasi) di media selektif *Actinomycetes* terlihat bahwa 35 isolat *Actinomycetes* umumnya didominasi warna putih, kuning, juga terdapat satu yang berwarna oranye (Tabel 4). Persentase jumlah warna koloni secara berurutan terdiri atas warna putih sebanyak

49,53%, warna kuning 22,22%, warna krem 20,22%, dan warna oranye 3,0% (Gambar 3).

Hasil pengamatan warna koloni (3–5 hari setelah inkubasi) ketiga puluh lima isolat didominasi warna putih (Gambar 4). Terjadinya perbedaan warna koloni disebabkan karena adanya pigmen intraseluler yang dihasilkan oleh bakteri (Cappuccino dan Sherman 2005).

Tabel 3 Karakter morfologi koloni dan reaksi gram positif isolat *Rhizobacteria* asal *rhizosphere* tanaman kedelai

Kode Isolat	Warna		Reaksi Gram	Pertumbuhan Koloni	Slime	Spora	Bakteri Terduga
	Hifa Aerial	Substrat Hifa					
AK1	Putih	Putih	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK2	Putih	Kuning	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK3	Krem	Krem	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK4	Putih	Krem	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK5	Kuning	Kuning	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK6	Krem	Krem	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK7	Krem	Krem	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK8	Putih	Putih	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK9	Putih	Kuning	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK10	Putih	Putih	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK11	Krem	Krem	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK12	Krem	Krem	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK13	Krem	Krem	(+)	(++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK14	Putih	Putih	(+)	(++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK15	Putih	Putih	(+)	(+++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK16	Putih	Putih	(+)	(++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK17	Putih	Putih	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK18	Putih	Putih	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK19	Putih	Putih	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK20	Putih	Putih	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>
AK21	Putih	Putih	(+)	(++++)	(-)	(+)	<i>Actinomyces</i>



Gambar 3 Persentase jumlah koloni teridentifikasi gram negatif

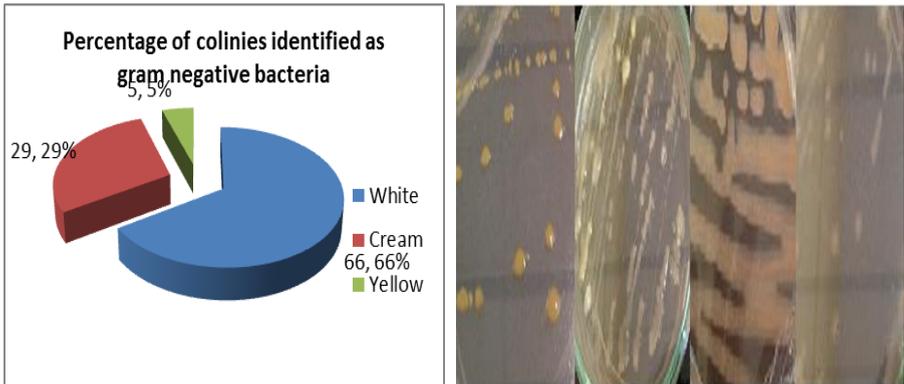
Tabel 4 Karakter morfologi koloni dan reaksi gram negatif isolat *Rhizobacteria* asal *rhizosphere* tanaman kedelai

Kode Isolat	Warna Koloni	Reaksi Gram	Pertumbuhan Koloni	Produksi Slime	Produksi Spora	Bakteri Terduga
RK1	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK2	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK3	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK4	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK5	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK6	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK7	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK8	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK9	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK10	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK11	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK12	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK13	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK14	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK15	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK16	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK17	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK18	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK19	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK20	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK21	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK22	Oranye	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK23	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK24	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK25	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK26	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK27	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK28	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK29	Krem	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK30	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>

RK31	Kuning	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK32	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK33	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK34	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>
RK35	Putih	(-)	(+++)	(+)	(-)	<i>Rhizobium</i>

Keterangan: (+)= reaksi gram positif

(-)= reaksi gram negative



Gambar 4 Persentase jumlah koloni teridentifikasi gram positif

6.2 Kemampuan Isolat Memfiksasi Nitrogen dan Melarutkan Fosfat

6.2.1 Fiksasi Nitrogen

Untuk menganalisis kemampuan kelima puluh enam isolat bakteri teridentifikasi gram positif dan gram negatif dalam memfiksasi nitrogen dilakukan dengan menggunakan media Burk N-bebas dan metode Kjedhal dengan hasil pengujiannya ditampilkan pada Tabel 5.

Telah diketahui bahwa penambat nitrogen secara biologis (BNF) dapat menurunkan penggunaan urea sebagai sumber N, dan juga mencegah penurunan bahan organik tanah dan mengurangi polusi terhadap lingkungan (Choudhury dan Khanif 2004; Kennedy *et al.* 2004). Sejalan dengan yang dikemukakan

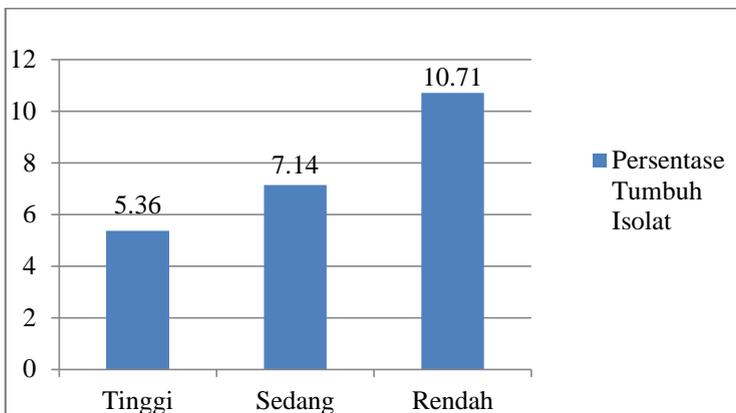
Wu *et al.* (1995) untuk mengurangi penggunaan pupuk N dapat dilakukan dengan cara mengoptimalkan penambatan nitrogen udara secara biologis.

Tabel 5 Hasil pengujian kemampuan fiksasi nitrogen isolat dari *Rhizosphere* tanaman kedelai

Kode Isolat	Nitrogen Total (Kjehdal) (%)	Pertumbuhan Koloni (Media Burk-N Bebas)	Kode Isolat	Nitrogen Total (Kjehdal) (%)	Pertumbuhan Koloni (Media Burk-N Bebas)
AK1	0.00	(-)	RK8	0.00	(-)
AK2	0.00	(-)	RK9	0.00	(-)
AK3	0.00	(-)	RK10	0.00	(-)
AK4	0.00	(-)	RK11	0.00	(-)
AK5	0.11	(+)	RK12	0.20	(++)
AK6	0.00	(-)	RK13	0.00	(-)
AK7	0.00	(-)	RK14	0.00	(-)
AK8	0.00	(-)	RK15	0.00	(-)
AK9	0.00	(-)	RK16	0.00	(-)
AK10	0.00	(-)	RK17	0.00	(-)
AK11	0.00	(-)	RK18	0.00	(-)
AK12	0.00	(-)	RK19	0.00	(-)
AK13	0.00	(-)	RK20	0.00	(-)
AK14	0.00	(-)	RK21	0.17	(+)
AK15	0.00	(-)	RK22	0.14	(+)
AK16	0.20	(++)	RK23	0.00	(-)
AK17	0.17	(+)	RK24	0.00	(-)
AK18	0.00	(-)	RK25	0.20	(++)
AK19	0.34	(+++)	RK26	0.00	(-)
AK20	0.14	(+)	RK27	0.34	(+++)
AK21	0.17	(+)	RK28	0.00	(-)
RK1	0.00	(-)	RK29	0.00	(-)
RK2	0.00	(-)	RK30	0.31	(+++)
RK3	0.00	(-)	RK31	0.00	(-)
RK4	0.00	(-)	RK32	0.00	(-)
RK5	0.00	(-)	RK33	0.00	(-)
RK6	0.00	(-)	RK34	0.22	(++)
RK7	0.00	(-)	RK35	0.00	(-)

Keterangan: (++) = Produksi Nitrogen Tinggi
 (++) = Produksi Nitrogen Sedang
 (+) = Produksi Nitrogen Rendah
 (-) = Produksi Nitrogen Tidak Ada

Hasil pengujian terhadap kelima puluh enam isolat yang ditumbuhkan di media Burk N-bebas, terlihat bahwa semua isolat dapat tumbuh walaupun mempunyai kemampuan yang berbeda. Dari hasil persentase kemampuan tumbuh terlihat bahwa terdapat tiga isolat (5,36 %) memiliki kecenderungan pertumbuhan yang kuat, empat isolat (7,14 %) mempunyai kecenderungan pertumbuhan yang sedang, dan enam isolat (10,71%) mempunyai kecenderungan pertumbuhan yang lemah (Gambar 5).



Gambar 5 Persentase tumbuh isolat pada media Burk's

Beberapa hasil penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media Burk-N bebas diindikasikan sebagai bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen (Ding *et al.* 2005; Dobereiner dan Pedrosa 1987; Sgyroy *et al.* 2009; Silva dan Melloni 2011) dan dapat membentuk pelikel (Lea-Madi *et al.* 1988; da Silva *et al.* 2011), dapat memproduksi ammonium (Shanmugam dan Valentine 1975; Saribay 2003) dan

memiliki aktivitas *nitrogenase* (da Silva *et al.* 2011; Dilworth 1966).

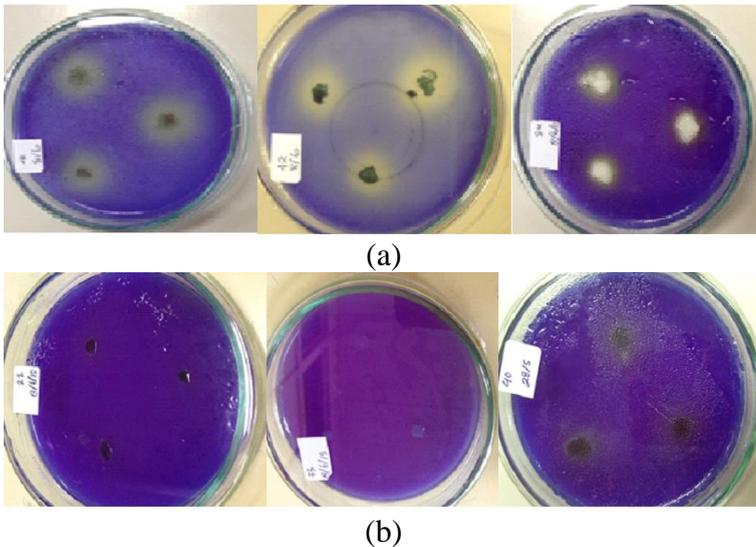
Hasil pengujian kandungan nitrogen total dengan metode Kjehdahl terhadap kelima puluh enam isolat, diperoleh konsentrasi nitrogen total berada pada kisaran 0,14%–0,34% (Tabel 5). Konsentrasi nitrogen total tertinggi ditunjukkan oleh isolat AK 19 (0,34%) dan isolat RK 27 (0,34%), sedangkan konsentrasi nitrogen total terendah ditunjukkan oleh isolat RK 22 (0,14%).

6.3 Pelarutan Fosfat

Bakteri memiliki efektifitas dan viabilitas yang bervariasi. Oleh karena itu, untuk mengetahui kemampuan bakteri melarutkan fosfat yang terikat dengan menumbuhkan pada media Pikovskaya padat yang mengandung P tidak larut seperti kalsium fosfat $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Kemampuan melarutkan fosfat ditandai dengan terbentuknya zona halo di sekeliling bakteri pada media tersebut (Gambar 6). Berdasarkan ketersediaan fosfat di tanah-tanah yang pada umumnya berada dalam bentuk tidak tersedia sehingga sangat dibutuhkan agen pupuk hayati yang mampu meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk P pada tanah-tanah yang banyak mengandung endapan kalsium fosfat yang terikat.

Dari lima puluh enam isolat yang diuji diperoleh sebanyak dua puluh tujuh isolat yang telah ditumbuhkan selama 24 jam pada media Phikovskaya yang ditambahkan dengan *brontimol blue* dengan metode sebar menunjukkan kemampuan memfiksasi

fosfat (Tabel 6). Isolat-isolat yang mampu melarutkan fosfat memiliki konsentrasi fosfat terlarut berbeda. Berdasarkan terlihat luas zona halo berada pada kisaran dari 0,70 cm sampai 2,75 cm. Isolat RK22 (0,70 cm) mempunyai luas zona halo terkecil dan isolat AK18 (2,75 cm) mempunyai zona halo yang terluas. Zona halo yang terluas diindikasikan sebagai isolat pelarut fosfat yang unggul karena menghasilkan diameter zone halo yang paling luas. Menurut Keneni *et al.* (2010), bakteri dikatakan mampu melarutkan fosfat apabila bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat yang terfiksasi di tanah dan mengubahnya menjadi bentuk tersedia untuk diserap tanaman.



Gambar 6 Uji pelaruran fosfat: (a) isolat yang membentuk zona halo (b) isolat yang membentuk zona halo di sekitar koloni

Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan oleh kedua puluh tujuh isolat berada pada kisaran 4,70 mg l⁻¹ sampai 14,92 mg l⁻¹. Enzim fosfatase dihasilkan oleh bakteri sehingga pelarutan fosfat secara biologis dapat berlangsung dengan baik (Lynch 1983) dan juga dengan bantuan enzim fitase (Alexander 1977). Akar tanaman akan memproduksi enzim fosfatase dengan bantuan mikroorganisme (Gaur *et al.* 1980; Paul dan Clark 1989) sehingga fosfat yang tersedia dalam tanah meningkat dan dapat diserap oleh akar tanaman (Premono *et al.* 1992). Oleh adanya interaksi tersebut enzim fosfatase yang dihasilkan dapat memutuskan senyawa fosfat yang terikat oleh senyawa-senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia (Louw dan Webly 1959). Selanjutnya (Widawati dan Suliasih 2006) menjelaskan bahwa asam organik dalam bentuk tersedia tersebut dapat berupa asam sitrat, glutamate, suksinat, laktat, oksalat, glikooksalat, fumarat, tartarat ataupun asam alpha-ketobutirat. Asam-asam organik akan membentuk khelat organik dari Al, Fe dan Ca dengan reaksinya terhadap AlPO₄, FePO₄ dan Ca(PO₄)² sehingga ion H₂PO₄ larut tersedia untuk tanaman.

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada Tabel 6 terdapat kecenderungan semakin besar zona halo semakin tinggi tingkat konsentrasi pelarutan fosfat, walaupun tidak semua ditemukan pada beberapa isolat yang diuji.

6.4 Kemampuan Isolat Memproduksi IAA dan GA3

6.4.1 Produksi IAA

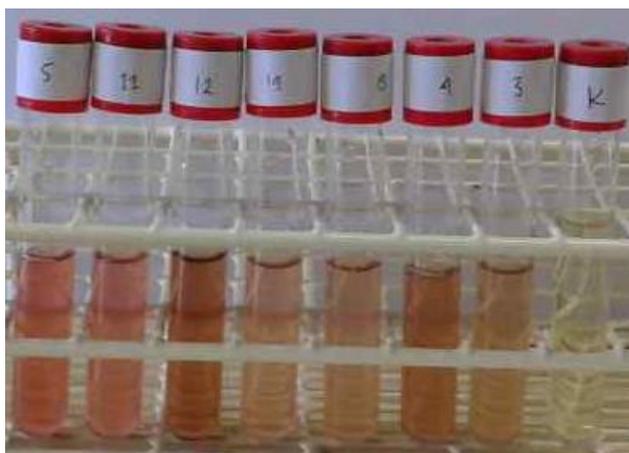
Sebanyak 56 isolat yang dikulturkan pada media NB + Agar + L-Triptofan setelah diuji, mampu menghasilkan IAA. Produksi IAA ditunjukkan oleh adanya perubahan warna *supernatant* yang direaksikan dengan reagen Salkowski. *Reagen* tersebut merupakan pereaksi yang dapat menentukan pembentukan konsentrasi IAA oleh bakteri. Tingginya stabilitas dan kepadatan warna setelah penambahan pereaksi Salkowski akan menentukan tingginya tingkat konsentrasi IAA. Hasil pengamatan konsentrasi IAA terhadap 56 isolat berdasarkan indikator perubahan warna setelah penambahan reagen Salkowsky ditampilkan pada Gambar 7 dan 8 serta Tabel 7.

Tabel 6 Kemampuan pelarutan fosfat isolat asal *Rhizosphere* tanaman kedelai

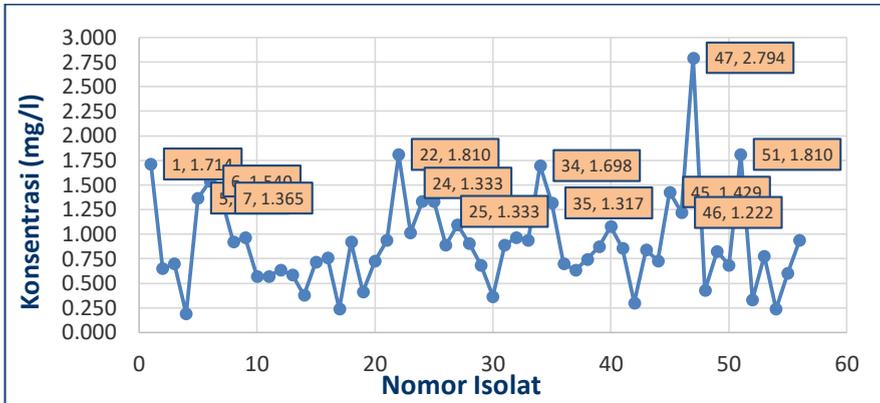
Kode Isolat	Pertumbuhan Koloni	Diameter Koloni (cm)	Diameter Zona Halo (cm)	Indeks Pelarutan (IP)	Efisiensi Pelarutan (EP)	Konsentrasi Fosfat Terlarut
RK 2	(+++)	0.60	2.55	3.25	425.00	6.89
RK 3	(+++)	0.65	0.95	0.46	146.15	9.38
RK 6	(+++)	0.70	1.20	0.71	171.43	7.71
RK 7	(+++)	0.75	1.25	0.67	166.67	9.27
RK 11	(+++)	0.65	1.85	1.85	284.62	11.37
RK 16	(+++)	0.65	1.80	1.77	276.92	10.03
RK 20	(+++)	0.70	1.45	1.07	207.14	9.94
RK 21	(+++)	0.70	1.90	1.71	271.43	11.15
RK 22	(+++)	0.65	0.70	0.08	107.69	6.75
RK 23	(+++)	0.65	1.30	1.00	200.00	9.21
RK 24	(+++)	0.70	1.65	1.36	235.71	10.34
RK 25	(+++)	0.60	1.25	1.08	208.33	10.31
RK 26	(+++)	0.70	2.20	2.14	314.29	11.08
RK 27	(+++)	0.68	2.25	2.31	330.88	14.92
RK 29	(+++)	0.75	1.55	1.07	206.67	7.50

RK 30	(+++)	0.70	1.60	1.29	228.57	10.23
RK 32	(+++)	0.60	1.25	1.08	208.33	9.12
RK 34	(+++)	0.65	1.20	0.85	184.62	11.81
AK 1	(+++)	0.60	0.90	0.50	150.00	11.06
AK 5	(+++)	0.70	1.20	0.71	171.43	9.59
AK 14	(+++)	0.65	1.30	1.00	200.00	8.01
AK 15	(+++)	0.75	1.80	1.40	240.00	9.50
AK 16	(++)	0.55	1.00	0.82	181.82	11.18
AK 17	(++)	0.80	1.60	1.00	200.00	4.70
AK 18	(++)	1.00	2.75	1.75	275.00	11.26
AK 19	(++)	1.20	1.75	0.46	145.83	4.70
AK 21	(++)	0.65	1.30	1.00	200.00	7.80

Keterangan: (++) : Kuat
 (++) : Sedang
 (+) : Lemah



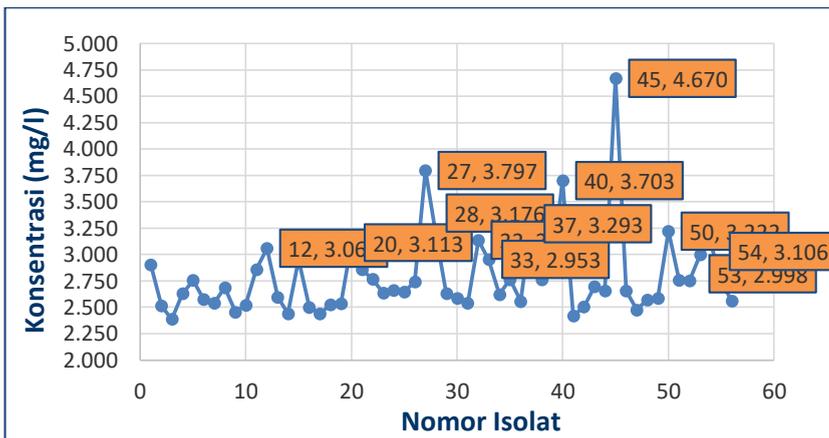
Gambar 7 Produksi IAA yang ditunjukkan dengan perubahan warna setelah penambahan reagen Salkowski



Gambar 8 Tingkat konsentrasi IAA diproduksi oleh isolat

6.4.2 Produksi GA3

Dari lima puluh enam isolat yang diperoleh ada yang potensial memproduksi GA. Hasil analisis menggunakan metode standar terlihat bahwa kelima puluh enam isolat dapat memproduksi GA dengan konsentrasi yang berbeda. Konsentrasi GA3 berada pada kisaran 2,953 mg/L sampai 4,670 mg/L (Gambar 9).



Gambar 9 Tingkat konsentrasi GA3 dan produksi isolat

6.5 Kemampuan Memproduksi Siderofor

Kemampuan menghasilkan siderofor dari kelima puluh enam isolat yang diuji mampu menghasilkan siderofor dengan dua tipe salisilat dan katekol. Kemampuan isolat dalam memproduksi senyawa pengkhelat besi berbeda-beda. Perbedaan tingkat konsentrasi yang dihasilkan sebagai bentuk perbedaan afinitas isolat dalam mengkhelat besi ataupun sebagai bentuk kemampuan isolat mengsekresi siderofor.

Tabel 7 Tingkat konsentrasi IAA, GA3, dan produksi siderofor

Nomor Isolat	Level Konsentrasi (mg/l) untuk Setiap Uji			
	GA	IAA	Siderophore 560 nm	Siderophore 700 nm
AK 1	2.902	1.714	0.665	0.995
AK 2	2.512	0.651	0.374	0.278
AK 3	2.389	0.698	0.508	0.057
AK 4	2.628	0.190	1.201	0.388
AK 5	2.755	1.365	0.520	0.904
AK 6	2.573	1.540	0.715	0.584
AK 7	2.539	1.365	0.609	0.986
AK 8	2.687	0.921	1.983	0.584
AK 9	2.455	0.968	1.212	0.694
AK 10	2.521	0.571	0.559	0.622
AK 11	2.858	0.571	0.419	0.478
AK 12	3.060	0.635	2.207	1.201
AK 13	2.598	0.587	0.620	0.010
AK 14	2.439	0.381	0.542	0.048
AK 15	2.949	0.714	1.631	0.641
AK 16	2.500	0.762	0.447	0.258
AK 17	2.439	0.238	0.950	0.268
AK 18	2.524	0.921	0.486	0.584
AK 19	2.535	0.413	0.564	0.182
AK 20	3.113	0.730	1.140	0.278
AK 21	2.856	0.937	0.128	0.584
RK1	2.765	1.810	0.028	0.402
RK2	2.637	1.016	0.263	0.397
RK3	2.660	1.333	2.073	6.167
RK4	2.645	1.333	0.950	0.172
RK5	2.743	0.889	0.994	0.211
RK6	3.797	1.095	0.922	0.254
RK7	3.176	0.905	1.190	0.397
RK8	2.628	0.683	1.039	0.411
RK9	2.588	0.365	0.799	0.134
RK10	2.538	0.889	0.765	0.498
RK11	3.135	0.968	0.715	0.091
RK12	2.953	0.937	0.240	0.373
RK13	2.622	1.698	0.592	0.416
RK14	2.764	1.317	0.363	0.383
RK15	2.556	0.698	0.207	0.392
RK16	3.293	0.635	1.073	0.402
RK17	2.764	0.746	0.950	0.660
RK18	2.880	0.873	0.961	1.024
RK19	3.703	1.079	0.983	0.431

Tabel 7 Lanjutan

Nomor Isolat	Level Konsentrasi (mg/l) untuk Setiap Uji			
	GA	IAA	Siderophore 560 nm	Siderophore 700 nm
RK20	2.419	0.857	0.385	0.091
RK21	2.502	0.302	1.140	2.823
RK22	2.698	0.841	1.190	1.263
RK23	2.658	0.730	0.134	0.306
RK24	4.670	1.429	0.642	0.086
RK25	2.654	1.222	0.078	0.033
RK26	2.476	2.794	0.531	0.474
RK27	2.571	0.429	0.564	0.067
RK28	2.588	0.825	0.760	0.431
RK29	3.222	0.683	0.408	0.507
RK30	2.755	1.810	0.341	0.182
RK31	2.750	0.333	0.430	0.282
RK32	2.998	0.778	0.341	0.182
RK33	3.106	0.238	1.246	1.856
RK34	2.755	0.603	1.045	2.014
RK35	2.559	0.937	0.296	0.397

6.6 Pengaruh Aplikasi Isolat Terhadap Pertumbuhan dan hasil Tanaman Kedelai

6.6.1 Tinggi Tanaman

Data rata-rata tinggi tanaman pada fase akhir dan sidik ragamnya menunjukkan bahwa perlakuan pemberian dosis *Actinomyces* berpengaruh nyata, sedangkan perlakuan dosis *Rhizobium* berpengaruh tidak nyata, interaksi juga tidak berpengaruh nyata (Tabel 8).

6.6.2 Luas Daun

Analisis statistik rata-rata luas daun tanaman kedelai pada fase pertumbuhan vegetatif dan fase reproduksi menunjukkan bahwa perlakuan pemberian *Actinomyces* dan *Rhizobium* berpengaruh tidak nyata pada fase pertumbuhan vegetatif dan

fase reproduksi tetapi interaksinya berpengaruh nyata pada kedua fase pertumbuhan tersebut (Tabel 9).

Tabel 8 Rata-rata tinggi tanaman (cm²) kedelai fase pembentukan polong maksimal pada pemberian *Actinomycetes* dan *Rhizobium*

Tinggi Tanaman Fase Akhir	Rata-rata	Simbol	NP BNJ $\alpha 0,05$
<i>Actinomycetes</i>			
a0	77.22	a	8.75
a1	72.56	a	
a2	66.89	b	
a3	66.89	b	

Tabel 9 Rata-rata luas daun tanaman kedelai fase pertumbuhan vegetatif dan fase reproduksi pada perlakuan pemberian *Rhizobium* dan *Actinomycetes*

	<i>Rhizobium</i>			Rata-rata	NP BNJ $\alpha 0.05$
	<i>Actinomycetes</i>	r1	r2		
Jumlah Daun Fase Vegetatif					
a0	56.00	67.00	80.00	67.67a	25.02
a1	59.00	62.00	82.00	67.67a	
a2	64.00	75.00	63.00	67.33a	
a3	56.00	61.00	82.00	66.33a	
Rata-Rata	58.75x	66.25x	76.75x		
NP BNJ $\alpha 0.05$	21.67				
Jumlah Daun Fase Akhir	<i>Rhizobium</i>		Rata-rata	NP BNJ	
	r1	r2	r3	$\alpha 0.05$	
<i>Actinomycetes</i>					
a0	18.00	19.00	29.00	22.00a	7.20
a1	20.00	27.00	25.00	24.00ab	
a2	28.00	28.00	28.00	28.00ab	
a3	23.00	20.00	17.00	20.00b	
Rata-Rata	22.25a	23.50a	24.75a		
NP BNJ $\alpha 0.05$	5.61				

6.6.3 Indeks Klorofil Daun

Analisis statistika rata-rata indeks klorofil daun tanaman kedelai pada fase pembentukan polong maksimal menunjukkan bahwa perlakuan pemberian *Actinomyces* tidak berpengaruh nyata, sedangkan *Rhizobium* pada tingkat pemberian yang berbeda berpengaruh nyata pada fase pertumbuhan pembentukan polong maksimal. Interaksi perlakuan berpengaruh tidak nyata pada fase pembentukan polong maksima (Tabel 10).

Tabel 10 Rata-rata indeks klorofil daun tanaman kedelai fase pembentukan polong maksimal pada perlakuan pemberian *Actinomyces* dan *Rhizobium*

Jumlah Klorofil	Rata-rata	Simbol	NP BNJ $\alpha 0.05$
<i>Rhizobium</i>			
r1	0.0238508	a	0.000406
r2	0.0239850	a	
r3	0.0242925	a	

6.6.4 Stomata Mesofil Daun Atas pada Bidang Pandang

Mikroskop

Analisis statistik rata-rata jumlah stomata pada mesofil daun kedelai menunjukkan bahwa perlakuan pemberian *Actinomyces* berpengaruh nyata, sedangkan pemberian *Rhizobium* nyata terhadap jumlah stomata mesofil daun bagian tanaman kedelai, sedangkan interaksinya berpengaruh tidak nyata (Tabel 11).

Tabel 11 Rata-rata jumlah stomata pada mesofil daun pada perlakuan Pemberian *Actinomyces* dan *Rhizobium*

Jumlah Stomata	Rata-rata	Simbol	NP BNJ $\alpha 0.05$
<i>Actinomyces</i>			
a0	57.05	a	

a1	58.55	a	9.70
a2	60.47	a	
a3	68.38	a	

6.6.5 Komponen Produksi Kedelai

Analisis statistik rata-rata jumlah cabang produksi, jumlah polong dan jumlah biji pertanaman menunjukkan bahwa perlakuan pemberian *Actinomyces* dan interaksi antara pemberian *Actinomyces* dan *Rhizobium* berpengaruh nyata terhadap jumlah cabang produksi, jumlah polong berisi, jumlah biji pertanaman, tetapi untuk cabang produksi interaksi tidak berpengaruh nyata. Pemberian *Rhizobium* tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah cabang produksi, polong berisi dan jumlah biji pertanaman.

Untuk menguji keterkaitan antara beberapa sifat agronomi pada tanaman pertanian dapat digunakan analisis ragam. Analisis ragam adalah suatu metode analisis data pada suatu percobaan. Analisis ragam sering digunakan sebagai salah satu cara untuk menarik kesimpulan ragam yang terjadi pada objek dalam percobaan-percobaan bidang pertanian (Nurhasanah 2012). Langkah awal untuk menganalisis adalah membuat rangkuman koefisien keragaman dan F-Hitung pada beberapa sifat agronomi disajikan pada Tabel 12.

Tabel 12 Rangkuman KK dan F Hitung dari sifat agronomi

No	Sifat yang Diamati	KK	F Hitung
1	Jumlah Polong Berisi (X1) Jumlah Biji Pertanaman	14.00%	22.57**
2	(X2)	13.00%	28.41**
3	Jumlah Polong (X3) Berat Biji Pertanaman	27.00%	5.05**
4	(X4)	16.64%	25.79**

Keterangan: (ns) berbeda tidak nyata; (*) berbeda nyata; (**) berbeda sangat nyata

Hasil nilai koefisien keragaman yang berbeda-beda tersebut menunjukkan derajat keakuratan data setiap sifat agronomi, tetapi tidak ada patokan nilai koefisien keragaman yang dianggap baik karena koefisien keragaman sangat dipengaruhi oleh berbagai faktor. Hasil analisis ragam menunjukkan bahwa sifat-sifat komponen produksi kedelai yang diteliti memiliki penampilan yang berbeda sangat nyata. Berdasarkan Tabel 12 menunjukkan bahwa terdapat keragaman penampilan sifat-sifat agronomi dari komponen produksi kedelai yang diamati, antara lain, jumlah polong berisi, jumlah biji pertanaman, jumlah polong dan berat biji pertanaman.

6.7 Analisis Korelasi Antar Karakter

Analisis korelasi antara sifat-sifat agronomi ini digunakan untuk menyatakan ada atau tidaknya hubungan antara dua variabel, yakni variabel X dengan variabel Y. Berdasarkan Ridwan dan Akdon (2010), kriteria tingkatan hubungan korelasi variabel memiliki interval nilai, berkisar 0,8–1,00 sangat kuat, 0,6–0,79 kuat, 0,4–0,59 cukup kuat, 0,2–0,39 rendah, dan

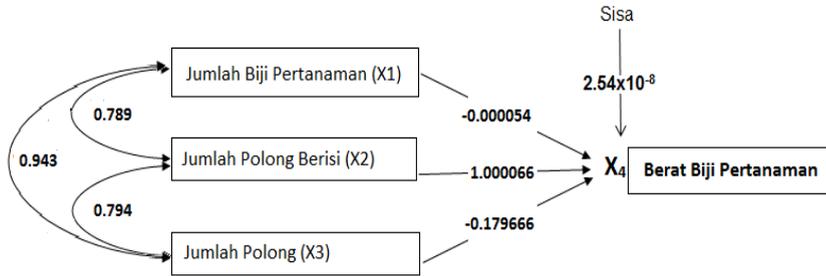
0,00–0,19 sangat rendah. Nilai korelasi komponen produksi sifat agronomi terhadap berat biji pertanaman disajikan dalam Tabel 13. Pada Tabel 13 menunjukkan bahwa dari komponen produksi yang diukur yang berkorelasi positif sangat nyata dengan berat biji pertanaman adalah jumlah biji pertanaman dan jumlah polong pertanaman yang berarti bahwa dengan penambahan jumlah berat biji pertanaman akan diikuti dengan penambahan jumlah biji pertanaman dan jumlah polong.

Tabel 13 Nilai korelasi komponen produksi sifat terhadap berat biji pertanaman

Variabel		Jumlah Polong Berisi (X1)	Jumlah Biji Pertanaman (X2)	Jumlah Polong (X3)	Berat Biji Pertanaman (X4)
Jumlah Berisi (X1)	Polong	1.00	0.789**	0.943**	0.789**
Jumlah Pertanaman (X2)	Biji	0.789**	1.00	0.794**	1.00
Jumlah (X3)	Polong	0.943**	0.794**	1.00	0.794**
Berat Pertanaman (X4)	Biji	0.789**	1.000	0.794**	1.00

6.8 Analisis Lintas

Diagram lintas atau *path analysis* digunakan untuk menguji interaksi antara satu sifat dengan sifat yang lain. Berdasarkan hasil analisis lintas diketahui pengaruh langsung dan pengaruh tidak langsung karena masing-masing komponen produksi dikorelasikan dengan berat biji pertanaman (Tabel 14). Hasil analisis lintas dijelaskan pada Gambar 10.



Gambar 10 Hubungan struktural antara jumlah biji pertanaman, jumlah polong berisi, jumlah polong dan berat biji pertanaman

Tabel 14 Koefisien langsung dan tak langsung korelasi antara jumlah biji pertanaman, jumlah polong berisi dan jumlah polong terhadap berat biji pertanaman

Nama Koefisien	Lambang Koefisien	Nilai Koefisien
Koefisien Langsung		
Koefisien Jalur Jumlah Polong Berisi	$\rho X1X4$	-0.000054
Koefisien Jalur Jumlah Biji Pertanaman	$\rho X2X4$	1.000066
Koefisien Jalur Jumlah Polong	$\rho X3X4$	-0.179666
Koefisien Tak Langsung		
Koefisien Korelasi antara Jumlah Polong Berisi dan Jumlah Biji Pertanaman	$rx1x2$	0.789
Koefisien Korelasi antara Jumlah Biji Pertanaman dengan Jumlah Polong	$rx2x3$	0.794
Koefisien Korelasi antara Jumlah Polong Berisi dengan Jumlah Polong	$rx1x3$	0.943

Tabel 15 Rangkuman korelasi terhadap berat biji pertanaman (r_{X1Y}), pengaruh langsung terhadap berat biji pertanaman (ρ_{X1Y}) dan sumbangan total sifat-sifat agronomi terhadap berat biji pertanaman

No	Sifat-Sifat Agronomi	Koefisien Tak Langsung r_{X1Y}	Koefisien Langsung ρ_{X1Y}	Sumbangan Total
1	Jumlah Polong Berisi (X1)	0.789	-0.000054	-0.000042606
2	Jumlah Biji Pertanaman (X2)	0.794	1.000066	0.794052404
3	Jumlah Polong (X3)	0.943	-0.179666	-0.169425038

Tabel 15 menunjukkan bahwa sumbangan total tertinggi terhadap berat biji pertanaman ada pada jumlah biji sebesar 0,794052404. Sifat ini juga memiliki nilai korelasi dan pengaruh langsung positif, dengan nilai yang paling besar diantara yang lain yaitu 0,794 dan 1,000066 sehingga jumlah biji pertanaman sangat efektif digunakan untuk seleksi. Jumlah nilai sumbangan total dari uji analisis lintas sifat-sifat agronomi terhadap jumlah biji pertanaman dapat menjelaskan besarnya nilai residu atau sisa. Nilai sisa atau residu yang diperoleh yaitu nilai sisa tersebut menjelaskan bahwa berat biji pertanaman tidak hanya dipengaruhi oleh pengaruh langsung dan tidak langsung dari sifat-sifat agronomi, tetapi juga faktor lain yang tidak dapat dijelaskan menggunakan uji analisis lintas, misalnya faktor lingkungan seperti iklim, suhu, curah hujan, dan lain sebagainya. Pengaruh sisa inilah yang menyebabkan nilai sumbangan total dari sifat-sifat agronomi terhadap berat biji pertanaman berkurang. Menurut Junaedi (2011), semakin rendah nilai sisa

atau residu, maka informasi yang didapatkan semakin baik karena sebagian besar pengaruh langsung dan tak langsung terhadap berat biji pertanaman dapat dijelaskan dengan sifat yang telah diamati.

VII TEORI TERAPAN TEKNOLOGI MIKROBA *AKTINOMYCETES*

7.1 Isolasi dan Karakterisasi Isolat Bakteri

Sebagaimana diketahui bahwa bakteri yang mampu berkoloni dengan perakaran tanaman dengan baik sehingga mikroba dapat memanfaatkan sekresi dari tanaman dengan baik untuk berkembang dan membantu tanaman untuk memfiksasi nutrien-nutrien baik yang berasal dari udara maupun dari tanah disebut sebagai *Plant Growth Promoting Bacteria*.

Isolasi dan karakterisasi isolat bakteri yang bersumber dari *rhizosphere* kedelai varietas Anjasmoro yang diperoleh dari tiga lokasi pertanaman kedelai diperoleh sebanyak 56 isolat bakteri. Isolat-isolat tersebut kemudian dikarakterisasi secara fisiologis dan morfologis.

Lima puluh enam isolat bakteri yang teridentifikasi mengkoloni perakaran kedelai sebagian besar berwarna putih, krem, kuning dan ada satu yang oranye. Adanya bakteri yang mengkolonisasi perakaran tanaman kedelai dapat membantu pertumbuhan tanaman tersebut. Sejalan dengan yang dikemukakan Kloepper dan Beauchamp (1992) bahwa kelompok bakteri yang tumbuh di sekitar zona perakaran akar dan berkolonisasi dengan akar merupakan kelompok *Rhizobacteria*

dan jika mikroba tersebut berkolonisasi dengan akar dan memacu pertumbuhan tanaman maka bakteri tersebut dapat digolongkan sebagai *Plant Growth Promoting Rhizobacteria*. Hal lain yang memberikan keuntungan bagi pertumbuhan tanaman atas keberadaan mikroba tersebut adalah produksi hormon tumbuh serta senyawa metabolit sekunder yang memberikan manfaat pada proses fisiologis serta menguntungkan bagi tanaman. Isolat bakteri yang menguntungkan secara fungsional dapat terjadi jika bakteri tersebut mampu mengkolonisasi akar atau hanya sebagai mikroorganisme saprofit pada permukaan akar (Schroth dan Weinhold 1986). Selanjutnya dikemukakan bahwa produksi senyawa metabolik yang dihasilkan oleh isolat bakteri *rhizobacteria* kemungkinan berupa hormon, antibiotik, siderofor, sianida dan produksi asam organik yang membantu dalam proses pelarutan fosfat termasuk kemampuan mengikat nitrogen.

Sejalan dengan berbagai mekanisme fisiologis tanaman, produksi senyawa metabolik, ketersediaan nutrisi sekitar daerah perakaran, faktor abiotik dan biotik serta adanya interaksi antara mikroba dengan tanaman memungkinkan adanya sejumlah besar bakteri yang dapat berkolonisasi dengan daerah perakaran. Hal tersebut sejalan dengan ditemukan beberapa isolat setelah melalui tahap sterilisasi isolasi. Aktivitas metabolisme dan proses sintesis senyawa metabolit yang dilepaskan oleh tanaman ke dalam tanah melalui akar merupakan faktor yang sangat menentukan keadaan mikrobiologi tanah pada daerah *rhizosphere*. Pertumbuhan mikroba sangat ditentukan dengan

status tanah atau kondisi status nutrisi pada daerah *rhizosphere*, sebab bakteri diketahui dapat membelah diri dan memanfaatkan nutrisi yang merupakan eksudat hasil metabolisme yang dikeluarkan oleh akar tanaman.

7.2 Karakterisasi Fisiologis Isolat Bakteri Memfiksasi Nitrogen dan Melarutkan Fosfat

7.2.1 Fiksasi Nitrogen Bebas

Ketersediaan nitrogen dalam bentuk N_2 tidak dapat diabsorpsi oleh tanaman sehingga dibutuhkan proses untuk ketersediaan dalam bentuk ammonium dan nitrat. Sebagaimana yang dikemukakan oleh Rao dan Subba (1994) dan Vessey (2003) bahwa fiksasi nitrogen secara biologis merupakan proses fiksasi N_2 ke ammonium dan terjadinya proses fiksasi tersebut sangat ditentukan dengan keberadaan enzim nitrogenase (Giller 2001).

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan dari 56 isolat yang ditumbuhkan pada media Burk N-bebas diperoleh 13 isolat yang mampu tumbuh pada media tersebut. Hal tersebut didukung dengan adanya beberapa penelitian yang menemukan bahwa bakteri yang mampu tumbuh pada media Burk-N bebas dikategorikan sebagai bakteri yang mampu memfiksasi N (Ding *et al.* 2005; Silva *et al.* 2011). Selanjutnya dapat dikatakan bahwa bakteri yang dapat tumbuh pada media Burk-N bebas dapat membentuk pelikel, dan juga dapat memproduksi ammonium (Saribay 2003) serta mempunyai aktivitas enzim nitrogenase, tetapi aktivitas nitrogenase berbeda-beda bergantung pada sifat

genetik gen *nifH* yang merupakan pengendali aktivitas enzim nitrogenase tiap spesies bakteri (Chelius *et al.* 2001; Garbeva *et al.* 2004; Reiter *et al.* 2002; Sessitsch *et al.* 2005).

Hasil yang diperoleh setelah pengujian kemampuan fiksasi N pada semua isolat ditemukan bahwa terdapat perbedaan kemampuan memfiksasi nitrogen dimulai dari lemah (+), sedang, hingga yang kuat daya tumbuhnya (+++). Perbedaan kekuatan tumbuh di media Burk-N bebas kemungkinan disebabkan tingkat ekskresi ammonium yang dikeluarkan pada media tumbuh, sesuai pendapat Conalgi *et al.* (1997) yang menyatakan bahwa hasil dari fiksasi nitrogen berbeda-beda tergantung pada spesies bakteri dan kondisi lingkungan. Hal tersebut menunjukkan perbedaan spesies dan kondisi lingkungan sangat erat keterkaitan pengaruhnya pada aktivitas enzim nitrogenase yang secara umum telah diketahui bahwa enzim nitrogenase inilah yang sangat mempengaruhi aktivitas fiksasi nitrogen. Persentase N total yang diperoleh memiliki konsentrasi yang berbeda-beda, yang diketahui bahwa perbedaan tersebut disebabkan oleh kemampuan bakteri membentuk pelikel berbeda-beda dan juga disebabkan oleh ekskresi ammonium yang berbeda sebagai akibat aktivitas nitrogenase (Saribay 2003; Turner dan Gibson 1980).

7.2.2 Isolat Bakteri Pelarut Fosfat

Telah diketahui bahwa fosfat adalah unsur makro yang dibutuhkan tanaman dalam jumlah besar setelah nitrogen. Hal tersebut disebabkan oleh fosfat berperan dalam semua proses metabolisme tanaman termasuk dalam proses fotosintesis,

transfer energi, sinyal transduksi, biosintesis makro, molekul dan respirasi (Khan *et al.* 2009). Fosfat dikenal juga faktor pembatas dalam proses pertumbuhan tanaman karena pada umumnya ketersediaan fosfat sangat terbatas dalam tanah. Walaupun keberadaan fosfat berlimpah dalam tanah, tetapi dalam bentuk yang tidak tersedia sehingga menyulitkan tanaman menyerapnya.

Goldstein (1986) melaporkan bahwa beberapa spesies bakteri mampu melarutkan fosfat anorganik seperti trikalsium fosfat, dikalsium fosfat, hidrosiapatit, dan rock fosfat. Telah diketahui bahwa terdapat beberapa spesies mikroba menunjukkan kemampuan pelarutan fosfat, termasuk bakteri, jamur seperti *Actinomycetes* dan ganggang. Berdasarkan hasil penelitian ditemukan kemampuan isolat yang dapat menunjukkan zona halo yang ditumbuhkan pada media Pikovskaya. (Pikovskaya 1948) menggunakan suatu metode untuk menguji daya pelarutan fosfat dan digabungkan dengan metode bromophenol blue. Keneni *et al.* (2010) mengemukakan bahwa bakteri dikategorikan sebagai pelarut fosfat jika bakteri tersebut mampu mengubah fosfat yang tidak tersedia menjadi bentuk tersedia bagi tanaman. Rao dan Subba (1994) menambahkan bahwa bakteri pelarut fosfat dapat ditumbuhkan dalam media yang mengandung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, FePO_4 , AlPO_4 , apatit, batuan P, dan komponen P-anorganik lainnya sebagai sumber P.

Dari hasil pengujian kelima puluh enam isolat di media Pikovskaya padat terlihat bahwa tidak semua isolat dapat membentuk zona halo di sekitar koloni dan hanya 27 isolat yang

membentuk zona halo. Hal ini mengindikasikan bahwa kedua puluh tujuh isolat dapat melarutkan fosfat. Luas zona halo yang dihasilkan bervariasi dan berada pada kisaran dari 0,70 cm–2,75 cm. Menurut Chen *et al.* (2006), terjadinya variasi indeks luas zona bening disebabkan oleh adanya perbedaan kemampuan kedua jenis isolat tersebut dalam mensekresikan asam organik ekstra selulernya.

Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan oleh kedua puluh tujuh isolat berada pada kisaran 4,70 mg/l sampai 11,81 mg/l. Proses pelarutan fosfat terjadi secara biologis karena bakteri menghasilkan enzim fosfatase (Lynch 1983) dan enzim fitase (Alexander 1977). Jika ketersediaan fosfat rendah maka enzim fosfatase akan diproduksi oleh akar tanaman dan mikroorganisme (Gaur *et al.* 1980; Paul dan Clark 1989) dengan demikian fosfat yang tersedia dalam tanah meningkat dan dapat diserap oleh akar tanaman (Premono *et al.* 1992). Enzim fosfatase dapat memutuskan fosfat yang terikat oleh senyawa-senyawa organik menjadi bentuk yang tersedia (Louw dan Webly 1959). Menurut Widawati dan Suliasih (2006), asam organik tersebut dapat berupa asam sitrat, glutamate, suksinat, laktat, oksalat, glikooksalat, fumarat, tartarat ataupun asam alpha-ketobutirat. Asam-asam organik akan membentuk khelat organik dari Al, Fe dan Ca dengan reaksinya terhadap AlPO_4 , FePO_4 dan $\text{Ca}(\text{PO}_4)_2$ sehingga ion H_2PO_4 larut tersedia untuk tanaman.

7.3 Kemampuan Isolat Memproduksi IAA, GA dan Siderofor

7.3.1 Produksi IAA

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan telah ditemukan bahwa kelima puluh enam isolat-isolat yang diperoleh dapat memproduksi fitohormon gibberelin, dan auksin (Abbass dan Okkon 1993; Hindersah *et al.* 2000; Thakuria *et al.* 2004).

Dari hasil yang diperoleh bahwa isolat dapat memproduksi IAA dengan konsentrasi yang berada pada kisaran 0,190 mg/l sampai 1,810 mg/l. Isolat RK 1 (1,810 mg/l) memproduksi IAA dengan konsentrasi tinggi dan yang terendah diproduksi isolat AK 1 (0,190 mg/l). Adanya perbedaan konsentrasi auksin diduga karena pengaruh jenis isolat yang berbeda, spesies dan strain yang diuji, kondisi kultur, tahap pertumbuhan dan ketersediaan substrat (Mirza *et al.* 2001), dan juga dapat dipengaruhi oleh faktor genetik, laju pertumbuhan dan aktivitas enzim (Khalid *et al.* 2005) serta kemampuan bakteri dalam mengkonversi triptofan yang terkandung dalam media menjadi IAA.

Bakteri *rhizosphere* yang mengkoloni permukaan akar relatif kaya akan substrat organik, dan mensintesis hormon auksin sebagai metabolit sekunder. Hormon tersebut diketahui memegang peranan penting terhadap regulasi pertumbuhan tanaman

Auksin merupakan salah satu produk metabolit sekunder yang dihasilkan bakteri, IAA yang disekresikan oleh bakteri akan meningkatkan pertumbuhan akar tanaman secara langsung

dengan menstimulasi pemanjangan sel atau pembelahan sel (Pattern dan Glick 2002; Ahmad *et al.* 2005) serta regulasi gen (Ryu dan Patten 2008). IAA adalah auksin eksogenus yang terbentuk dari triptofan yang merupakan suatu senyawa dengan inti indol dan selalu terdapat dalam jaringan tanaman. Di dalam proses biosintesis, triptofan diubah menjadi IAA dengan membentuk *indole pyruvic acid* dan *indole-3-acetaldehyde*. Akan tetapi, IAA ini dapat pula terbentuk dari tryptamine yang selanjutnya menjadi *indole-3-acetaldehyde*, selanjutnya menjadi *indole-3-acetic acid*, sedangkan mengenai perubahan dari *indole-3-acetonitrile* menjadi IAA dengan bantuan enzim nitrilase prosesnya masih belum diketahui (Abidin 1982). Biosintesis AIA oleh mikroba dapat ditingkatkan melalui penambahan triptofan eksogenus sebagai prekursor (Arkhipchenko *et al.* 2006).

Menurut Khalid *et al.* (2005) dan Pattern dan Glick (2002), sekitar 80% bakteri dalam tanah secara alami mampu menghasilkan auksin. Selanjutnya diketahui bahwa bakteri memanfaatkan triptofan yang disekresikan oleh tanaman sebagai eksudat akar untuk mensintesis auksin karena triptofan dianggap sebagai prekursor untuk sintesis IAA (Spaepen *et al.* 2007). Hasil pengujian terhadap kelima puluh enam isolat dapat memproduksi IAA dengan konsentrasi yang berbeda-beda setelah ditumbuhkan pada media yang ditambahkan L- triptofan. Perbedaan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh berbagai isolat bakteri yang diuji disebabkan oleh adanya perbedaan jalur atau mekanisme memproduksi IAA. Konsentrasi IAA yang

diproduksi oleh isolat tergantung pada aktivitas dan jumlah sel, ketersediaan nutrisi dan substrat L-triptofan dalam media. Sebagai yang telah diketahui bahwa ada tiga jalur pembentukan IAA, yaitu jalur IPyA (*Indole-3-Pyruvic Acid*), jalur TAM (*Triptamine*) dan jalur IAN (*Indole-3-Acetonitril*). Untuk bakteri hanya ada dua jalur, yaitu TAM dan IPyA yang bersifat *inducible* oleh senyawa triptofan. Selanjutnya Ahmad *et al.* (2005) menemukan bahwa konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh mikroorganisme berkorelasi positif dengan peningkatan triptofan antara 1–100 µg/mL. Hal ini sejalan dengan penelitian produksi IAA yang menggunakan media kultur yang ditambahkan dengan triptofan sebagai prekursor dan juga adanya tambahan Salkowski senagai reagen dan diinkubasikan pada ruang gelap. Kondisi gelap dibutuhkan akan memacu produksi IAA sebab saat pembentukan asam Indole piruvat oleh bakteri yang peka cahaya.

7.3.2 Produksi GA3

Dari hasil ditemukan bahwa bahwa kelima puluh enam isolat mampu memproduksi GA yang berada pada kisaran 2,389 mg/L sampai 3,797 mg/L. Isolat RK 6 dapat memproduksi GA dengan konsentrasi tertinggi sebesar 3,797 mg/L dan isolat AK 3 hanya dapat memproduksi GA yang rendah dengan konsentrasi 2,389 mg/L.

Menurut Bottini *et al.* (2004), bakteri dapat meningkatkan kadar GA pada kultur isolat bakteri karena produksi GA, dekonjugasi GA dari eksudat akar atau GA *inactive hydroxylating*. Giberelin berperan dalam mengontrol proses-

proses perkembangan tanaman yang meliputi perkecambahan, pemanjangan sel, dan perkembangan bunga dan benih (Lakitan 1996). Jika diberikan secara tunggal maka giberelin dapat meningkatkan pertumbuhan pada tanaman lebih kuat dibandingkan dengan pengaruh yang ditimbulkan oleh AIA (Dewi 2007). Peningkatan pertumbuhan tanaman diketahui karena adanya koordinasi dari auksin, giberelin dan sitokinin yang seimbang pada sistem pertumbuhan tanaman. Efek metabolik sekunder tergantung pada konsentrasi, yaitu konsentrasi rendah dapat merangsang pertumbuhan sedangkan konsentrasi tinggi dapat menjadi penghambat. Begitu juga dengan sitokinin dan giberelin.

Fungsi giberelin pada fungi dan bakteri belum banyak dipahami, meskipun fungi dan bakteri memiliki peran dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan tanaman inangnya (Rademacher 1994; Bottini *et al.* 2004). Selain GA3, giberelin lain dengan aktivitas fitohormon juga telah ditemukan pada PGPR, seperti GA1 pada *Azospirillum spp* (Bottini *et al.* 2004) dan GA1 dan GA4 pada *Rhizobium phaseoli* (Atzom *et al.* 1988) dan *Bacillus spp* (Gutierrez-Manero *et al.* 1996). Jalur biosintesis yang mengarah ke produksi giberelin pada tanaman (Yamaguchi 2008) dan fungi (Tudzynski 2005) telah diketahui namun pada bakteri belum jelas (Fischbach dan Clardy 2007).

7.3.3 Kemampuan Isolat Memproduksi Siderofor

Jumlah isolat yang mampu mensekresi siderofor sama dengan jumlah isolat yang mampu memproduksi IAA dan GA3

yaitu lima puluh enam. Hasil menunjukkan bahwa kemampuan isolat-isolat bakteri tersebut memiliki karakter lebih dari satu. Karakter yang ditampilkan oleh berbagai isolat selain sebagai pemacu pertumbuhan (memproduksi hormon) juga mampu mengsekresi siderofor. Tiap bakteri yang mensekresi siderofor berbeda kemampuannya dalam hal penyerapan zat besi, yang pada umumnya dapat menekan fungsi patogen. Perbedaan ini ditunjukkan dengan adanya perbedaan konsentrasi yang dihasilkan oleh isolat penghasil siderofor. Siderofor diproduksi di luar sel, dapat mengikat Fe^{3+} , dan mentransfernya melalui membran sel dalam ruang periplasmatik (Budzikiewich 2001). Dalam pengendalian penyakit tumbuhan siderofor memainkan peranan dengan menyerap besi dari lingkungan dan menyediakan mineral yang penting bagi sel mikroba (Neillands 1995).

Bakteri berperan dalam proses penguraian bahan organik, melepaskan nutrisi ke dalam bentuk yang tersedia bagi tanaman, dan mendegradasi residu toksik dengan memproduksi siderofor (Sparling 1998). Kemampuan memproduksi siderofor juga diperlihatkan oleh kelima puluh enam isolat. Konsentrasi siderofor berada pada kisaran 0,078 mg/L sampai 2,073 mg/L untuk siderofor tipe salisilat, sedangkan siderofor tipe katekol konsentrasi siderofor berada 0,033 mg/L sampai 6,167 mg/L.

Terjadinya perbedaan kemampuan memproduksi siderofor ini dapat dikatakan sebagai bentuk perbedaan afinitas isolat dalam mengkelat besi ataupun sebagai bentuk kemampuan isolat bakteri mensekresi siderofor. Siderofor merupakan senyawa

pengompleks Fe^{3+} atau pengkhelat besi spesifik yang dihasilkan mikroba untuk menyembunyikan unsur mikro besi di lingkungan *rhizosphere* sehingga unsur ini tidak tersedia bagi perkembangan mikroba patogen. Mikroba diketahui berfungsi sebagai pengendali patogen berasal dari tanah (*bioprotectants*) dengan cara menghasilkan berbagai senyawa atau metabolit anti patogen seperti siderophore, β -1,3- glukukanase, kitinase, antibiotik, dan sianida (Kloepper 1993; Cattelan *et al.* 1999; Tenuta 2006).

Proses mekanisme kerja siderophore terjadi melalui perkembangan yang sangat cepat dari bakteri yang menkolonisasi akar tanaman dan memindahkan besi di daerah permukaan akar serta terciptanya kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan akar. Siderophore diproduksi di luar sel, dapat mengikat Fe^{3+} dan mentransfernya melalui membran sel dalam ruang periplasmatik (Budzikiewich 2001). Siderophore sangat berperan dalam menyerap besi dari lingkungan dan sebagai penyedia mineral-mineral yang penting bagi sel mikroba (Neillands 1995). Bakteri penghasil siderophore dalam mengikat Fe^{3+} merupakan pesaing terhadap mikroorganisma lain, serta dapat menginduksi ketahanan tanaman.

Berdasarkan sifat-sifat kimia kelompok pengkhelat besi, siderofor diklasifikasikan sebagai hydroxamate. Siderophore tipe catekol (fenolat) mengikat Fe menggunakan gugus hidroksil yang berdekatan cincin katekol. Kelat Fe^{3+} menggunakan atom nitrogen dari cincin thiazoline dan oksazolin pada siderofor tipe hydroxamate (Crosa dan Walsh 2002). Salisilat adalah prekursor

chelators besi, siderofor pada bakteri patogen seperti yarsiniabactin dari *Yersinia spp*, mycobactin dari *Mycobacterium tuberculosis* dan phyachelin pada *Pseudomonas aeruginosa* (Crosa dan Walsh 2002). Salisilat dan turunannya penting sebagai analgesik, antipiretik, antikoagulan dan obat anti inflamasi (Kopp dan Ghosh 1994; Weissmann 1991), selain itu salisilat juga penting bagi tanaman sebab dapat menginduksi pembungaan dan terlibat dalam hal perlindungan terhadap sistemik penyakit melalui beberapa jalur signal transduksi (Klessig dan Malamy 1994).

Menurut Meyer *et al.* (1992); Sokol *et al.* (1992); Visca *et al.* (1993), menyatakan bahwa salisilat bertindak sebagai sebuah siderofor meskipun hal ini hanya dapat terjadi tanpa adanya persaingan ion seperti fosfat yang dapat memicu besi dari ferrisalicylate dan membuat besi tidak dapat di serap untuk penyerapan kedalam sel (Ratledge *et al.* 1974). Peran salisilat sebagai siderofor sangat terbatas dan hanya berlaku untuk bakteri patogen (Barclay dan Wheeler 1989).

7.4 Pengaruh Aplikasi Isolat Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Kedelai

Hasil analisis beberapa sifat agronomik yang diuji menunjukkan pengaruh yang nyata terhadap tinggi tanaman pada saat berbunga, jumlah cabang dan jumlah bintil akar, jumlah daun fase awal dan fase vegetatif, luas daun, jumlah klorofil, jumlah stomata dan kerapatan stomata, tetapi berpengaruh tidak nyata terhadap tinggi tanaman fase awal dan fase vegetatif, jumlah

polong, jumlah buku, jumlah daun fase akhir. Di sisi lain, interaksi antara *Actinomycetes* dan *Rhizobium* berpengaruh tidak nyata terhadap semua parameter kecuali berat biji pertanaman dan jumlah cabang.

Berdasarkan hasil analisis statistik, pemberian isolat *Actinomycetes* dan *Rhizobium* berpengaruh nyata pada tinggi tanaman. Tinggi tanaman pada stadia panen antara 66,89 cm hingga 72,56 cm, sedangkan kontrol mempunyai tinggi tanaman 77,22 cm (Tabel 6). Diantara tiga tingkat jumlah mikroba *Actinomycetes* yang di uji tinggi tanamannya cenderung tidak melebihi kontrol yang tidak diberikan inokulasi *Actinomycetes*.

Jumlah cabang menunjukkan perbedaan nyata antar tiga konsentrasi inokulan diuji dibandingkan dengan kontrol. Dari hasil ditemukan kontrol hanya memiliki 4 cabang, jumlah cabang yang paling sedikit di antara tiga konsentrasi inokulan *Actinomycetes* yang diaplikasikan. Semakin banyak cabang tanaman diharapkan semakin banyak buku subur yang terbentuk sehingga jumlah polong dan biji yang terbentuk juga semakin banyak. Namun, pada penelitian ini yang memiliki jumlah cabang terbanyak tidak diikuti hasil yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan pendapat Adisarwanto (2007) yang menyatakan bahwa batang tidak mempunyai hubungan yang signifikan dengan jumlah biji yang diproduksi. Jumlah cabang banyak, belum tentu produksi kedelai juga banyak.

Jumlah bintil akar menunjukkan perbedaan nyata antar dosis inokulan yang diuji dan kontrol. Dosis $3,25 \times 10^9$ memiliki

bintil akar terbanyak yaitu 8,11 dan dosis $3,25 \times 10^7$ yang memiliki bintil akar yang paling sedikit hanya 5,33. Jumlah bintil akar ada hubungannya dengan aktivitas penambatan nitrogen yang difiksasi oleh bintil akar. Hal tersebut terbukti dengan jumlah inokulan yang terbanyak yang diberikan memiliki aktivitas yang lebih baik pada perakaran tanaman sehingga terbentuk bintil lebih banyak. Selain itu, sistem perakaran juga dipengaruhi oleh kondisi tanah. Tanah merupakan faktor terpenting dan mempunyai hubungan timbal balik yang sangat erat kaitannya dengan tanaman yang tumbuh di atasnya. Luas daun terlebar dimiliki oleh inokulan *Actinomyces* $3,25 \times 10^9$ CFU/mL sementara jumlah klorofil terbanyak dimiliki oleh *Rhizobium* dengan $4,25 \times 10^{10}$ CFU/mL. Telah diketahui bahwa daun berfungsi sebagai penerima cahaya dan sebagai media untuk berlangsungnya proses fotosintesis. Klorofil dan luas daun mengidentifikasi jumlah besaran penyerapan cahaya yang diterima tanaman. Jika meningkat proses fotosintesis pada daun maka akan meningkatkan fotosintat yang ditranslokasikan ke bagian reproduktif tanaman tersebut.

Pertumbuhan adalah merupakan hasil dari berbagai proses fisiologi, melibatkan faktor genotipe yang berinteraksi dalam tubuh tanaman dengan faktor lingkungan. Proses tersebut yaitu penambahan ukuran, bentuk, dan jumlah. Tanaman dapat bertumbuh bila tersedia faktor-faktor pendukung, salah satunya adalah menggunakan inokulasi bakteri *Actinomyces* dan *Rhizobium*. Beberapa hasil penelitian menunjukkan, dengan

menggunakan *rhizobacteria* sebagai perlakuan benih mampu memperbaiki atau meningkatkan perkecambahan benih tanaman (Sutariati 2006). Tokala *et al.* (2002) mengatakan bahwa *Actinomyces* merupakan bakteri fiksasi N₂ yang mampu menghasilkan nodul dan mempercepat proses nodulasi untuk memacu pertumbuhan nodul dan diferensiasi bakteroid dan tujuan bakteroid dalam mengassimilasi besi dan bahan organik lainnya dari dalam tanah. Hasil dari proses tersebut memacu pertumbuhan tanaman secara keseluruhan. Hal lain yang disebabkan oleh substansi zat pemacu tumbuh IAA, sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman. Diketahui bahwa mikroba mampu menghasilkan fitohormon yang dapat meningkatkan perkecambahan dan pertumbuhan perakaran (Hindersah *et al.* 2000), menghasilkan vitamin dan hormon pertumbuhan terutama IAA dan GA dalam *rhizosphere*, dan mengarah kepeningkatan perkecambahan, pertumbuhan tanaman dan produksi (Venkataraman *et al.* 1982).

Pada pengamatan stomata daun semua galur yang diuji dan varietas Panderman memiliki luas bukaan stomata yang kecil sehingga kemungkinan pupuk masuk melewati celah stomata juga kecil. Hal ini juga menjadi salah satu faktor tidak berpengaruhnya pemberian pupuk pada pertumbuhan dan produksi kedelai yang ditanam.

Menurut Darmawan (2008), pemberian inokulan terhadap benih sebelum dkecambahkan dimaksudkan untuk mengaktifkan proses metabolisme secara fisiologis yang berlangsung pada

benih. *Actinomyces* diduga mampu memproduksi auksin dan giberelin yang berfungsi sebagai hormon tumbuh, walaupun diproduksi dalam konsentrasi yang sangat rendah, tetapi sejumlah kecil hormon dapat membuat efek yang sangat besar terhadap pertumbuhan dan perkembangan organ suatu tumbuhan. Setelah menghasilkan hormon hingga pada ambang konsentrasi tertentu, maka sejumlah gen yang semula tidak aktif akan memulai menunjukkan reaksi sehingga akan menimbulkan perubahan fisiologis pada tanaman.

Campbell dan Reece (2002) menyatakan bahwa auksin berkaitan dengan aktivitas lesitin pada plasmolemma yang mengakibatkan peningkatan laju respirasi dan melonggarkan matriks polisakarida pada dinding sel yang akan menyebabkan terjadinya pemanjangan dan pembesaran sel sehingga laju pertumbuhan perkecambahan benih akan meningkat lebih cepat dibanding dengan tanpa perlakuan inokulasi. Telah diketahui bahwa Auksin dan Giberelin dilepaskan ke *rhizosphere* sehingga dapat memperbaiki pertumbuhan vegetatif tanaman. Permeabilitas dinding sel akan meningkat jika terdapat penambahan Auksin sehingga penyerapan unsur hara dari dalam tanah akan meningkat dan akan menambah penyerapan beberapa unsur-unsur di antaranya unsur N, Mg, Fe, Cu untuk membentuk klorofil yang sangat diperlukan untuk mempertinggi fotosintesis. Laju fotosintesis akan meningkatkan hasil fotosintesis pada daun dan akan bergerak ke akar untuk memacu pembentukan giberelin dan sitokinin di akar yang akan membantu pembentukan dan

perkembangan akar. Penambahan kandungan auksin eksogen di akar akan meningkatkan tekanan turgor akar sehingga giberelin dan sitokinin endogen di akar akan diangkut ke atas/bagian tajuk tanaman. Penambahan sitokinin dan giberelin eksogen dari inokulasi mengakibatkan terjadi peningkatan kandungan sitokinin di tajuk yang menginduksi pembelahan sel dan meningkatkan jumlah sel (oleh hormon sitokinin dan giberelin) di tanaman dan ukuran sel (oleh hormon giberelin) yang bersama-sama dengan hasil fotosintat yang meningkat di awal penanaman akan mempercepat proses pertumbuhan vegetatif tanaman. Dengan demikian maka laju pertumbuhan daun meningkat yang mengakibatkan peningkatan jumlah daun dan luas daun. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan inokulasi *Actinomycetes* dan *Rhizobium* memberikan pertambahan luas daun yang lebih baik dari kontrol. Daun merupakan organ utama yang melakukan fotosintesis yang selanjutnya akan menghasilkan asimilat yang ditranslokasi ke organ pengguna untuk menyusun berat kering tanaman. Hal ini didasarkan pada kenyataan bahwa sekitar 90 % berat kering tanaman berasal dari hasil fotosintesis (Leopold dan Kriedemann 1975).

Prihmantoro (2007) menyatakan bahwa apabila waktu penyerapan auksin yang diperlukan oleh tanaman sudah terpenuhi, maka proses fisiologis tanaman akan berjalan dengan baik dan akan memacu perkecambahan dan pertumbuhan tanaman. Lukikariati *et al.* (1996) menyatakan bahwa luas daun yang besar meningkatkan laju fotosintesis tanaman sehingga

akumulasi fotosintat yang dihasilkan menjadi tinggi. Fotosintat yang dihasilkan mendukung kerja sel-sel jaringan tanaman dalam berdiferensiasi sehingga akan mempercepat pertumbuhan dan perkembangan bagian pembentukan tanaman seperti daun, batang dan akar.

VIII INVENSI MIKROBA

Dari hasil ilmiah dalam mengisolasi, identifikasi dan aplikasi mikroba ke tanaman kedelai kesimpulan sebagai berikut.

Aplikasi inokulasi *Actinomycetes* dan *Rhizobium* memperlihatkan hasil yang lebih baik terhadap tinggi tanaman fase akhir, jumlah cabang, jumlah binti akar, jumlah daun fase awal dan fase vegetatif, jumlah stomata dan kerapatan stomata.

DAFTAR PUSTAKA

- Abbass Z, Okkon Y. 1993. Plant growth promotion by *Azotobacter paspali* in the rhizosphere. *Soil Biol Biochem.* 25:1075–1083.
- Abidin Z. 1982. *Dasar-Dasar Pengetahuan tentang Zat Pengatur Tumbuh*. Bandung: Penerbit Angkasa.
- Adisarwanto. 2007. *Meningkatkan Produksi Kacang Tanah di Lahan Sawah dan Lahan Kering*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Aditiasari D. 2015. RI masih defisit produksi kedelai 1.5 juta ton. detikFinance. Berita Ekonomi Bisnis [diakses 2017 Des 1]. <https://finance.detik.com/berita-ekonomi-bisnis/d-2960212/2015-ri-masih-defisit-produksi-kedelai-15-juta-ton>.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan M. 2005. Indoleacetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonad* in the presence and absence of tryptophan. *Tutk J Biol.* 29:29–34.
- Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd Ed. New York: John Willey & Sons.
- Amalia R. 2007. Pengaruh perlakuan benih menggunakan Rhizobakteria Pemacu Pertumbuhan Tanaman (RPPT) dan pemupukan P terhadap pengendalian penyakit antraknosa, serta pertumbuhan cabai merah (*Capsicum annum* L.) [skripsi]. Bogor: Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor.
- de Araujo M, Silva C, Azevedo J. 2000. Isolation of the endophytic actinomycetes from roots and leaves of maize (*Zea mays* L.). *Brazilian Arch Biol Technol.* 43(4):447–451.
- Arkhipchenko I, Shaposhnikov A, Kravcheno L. 2006. *Tryptophan Concentration of Animal Waste and Organik Fertilizer*. Praha: Elsevier.

- Atzom R, Crozier A, Wheeler C, Sandberg G. 1988. Production of gibberellins and indole-3-acetic acid by *Rhizobium phaseoli* in relation to nodulation of *Phaseolus vulgaris* roots. *Planta*. 175:532–538.
- Augustinus S, Bhavsar S, Kapadnis B. 2005. Een niet-polyeen antischimmel antibioticum van *Streptomyces albidoflavus* PU 23". *Tijdschr voor biowetenschappen*. 30(2):201–211.
- Azevedo J, Pereira W, de Araujo M. 2000. Endophytic microorganisms: a review on insect control and recent advances on tropical plants. *Electron J Biotechnol*. 3(1):40–65.
- Bacon C, White J. 2000. *Microbial Endo-phytes*. New York: Marcel Dekker.
- Barclay R, Wheeler P. 1989. *Metabolism of Mycotoxins*. Ratledge C, Stanford J, Grange J, editor. London: Academic Press.
- Bashan Y, De-Bashan L. 2010. How the plant growth-promoting bacterium *Azospirillum* promotes plant growth. *Adv Agron*. 108:77–136.
- Bhawsar S. 2011. Rhizobacteria - bacteria living in vicinity of plant roots [diakses 2017 Des 1]. <https://www.biotecharticles.com/Agriculture-Article/Rhizobacteria-Bacteria-Living-in-Vicinity-of-Plant-Roots-586.html>.
- Borrow A, Brain P, Chester U, Curtis H, Hemming E, Jeffereys R, Lloyd I, Nixon G, Norris, Radley N. 1955. Gibberelic acids a metabolic product of the fungus *Gibberella fujikuroi* some of observations on its production and isolation. *J Sci Food Agric*. 6:340–348.
- Bottini R, Cassan F, Piccoli P. 2004. Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl Microb Biotechnol*. 65:497–503.
- BPS. 2015. *Produksi Tanaman Pangan*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.

- Bruehl G. 1987. *Soilborne Plant Pathogens*. New York: MacMillan Publishing Co.
- Buckley N, Pugh G. 1971. Auxin production by phylloplane fungi. *Nature*.:231–332.
- Budzikiewich H. 2001. Siderophore antibiotic conjugates used a trojan horse against *Pseudomonas aeruginosa*. *Curr Top Med Chem I*. 73.
- Campbell N, Reece J. 2002. *Biology*. San Francisco: Pearson Education, Inc.
- Cappuccino J, Sherman N. 2005. *Microbiology: A Laboratory Manual*. New York: The Benjamin Cummings Publishing Company Inc.
- Cattelan A, Hartel P, Fuhrmann J. 1999. Screening for plant growth-promoting rhizobacteria to promote early soybean growth. *Soil Sci Soc Am*. 63:1670–1680.
- Chelius C, Shishido M, Naim J, Jungwirth S, Markham J, Xiao G, Holl F. 2001. The diversity of archaea and bacteria in association with the roots of *Zea mays* L. *Microbiol Ecol*. 41(3):252–263.
- Chen Y, Rekha P, Arun A, Shen F, Lai W, Young C. 2006. Phosphate solubilizing bacteria from subtropical soil and their tricalcium phosphate solubilising activities. *Appl Soil Ecol*. 34:33–41.
- Choudhury A, Khanif Y. 2004. Effects of nitrogen and copper fertilization on rice yield and fertiliser nitrogen efficiency: A ¹⁵N tracer study. *Pak J Sci Ind Res*. 47:50–55.
- Chung K, Shilts T, Erturk U, Timmer L, Ueng P. 2003. Indole derivatives produced by the fungus *Colletotrichum acutatum* causing lime anthracnose and postbloom fruit drop of citrus. *FEMS Micro Lett*. 226:23–30.
- Conalgi R, Green A, Luhong H, Rudnick P, Kennedy C. 1997. Strategies for increased ammonium production in free-living or plant associated nitrogen fixing bacteria. *Plant Soil*. 194:145–154.

- Coombs J, Franco C. 2003. Isolation and identification of actinobacteria from surface-sterilized wheat roots. *Appl Environ Microbiol.* 69:5606–5608.
- Crawford D, Lynch J, Whipps J, Ousley M. 1993. Isolation and characterization of actinomycete antagonists of fungal root pathogen. *Appl Environ Microbiol.* 59(11):3899–3905.
- Crawford D, Mahadevan B. 1997. Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC-108. *Enzym Microb Technol.* 20(7):489–493.
- Crosa J, Walsh C. 2002. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiol Mol Biol Rev.* 66:223–249.
- Darmawan. 2008. *Meningkatkan Produksi Tanaman dengan Kompos Alang-alang*. Jakarta: Trubus.
- Desmawati. 2008. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) prospek yang menjanjikan dalam berusahatani tanaman hortikultura [diakses 2012 Sep 11]. <http://ditlin.hortikultura.go.id/tulisan/desmawati.htm>.
- Dewi I. 2007. *Rhizobakteria Pendukung Pertumbuhan Tanaman*. Jatinangor: Fakultas Pertanian Universitas Padjajaran.
- Dey K, Bhatt D, Chauhan S. 2004. Growth promotion and yield enhancement of peanut (*Arachis hypogaea* L.) by application of plant growth promoting rhizobacteria. *Microbiol Res.* 159:371–394.
- Dilworth M. 1966. Acetylene reduction by nitrogen-fixing preparations from *Clostridium pasteurianum*. *Biochem Biophys Acta.* 127:285–294.
- Ding Y, Wang J, Liu Y, Chen S. 2005. Isolation and identification of nitrogen-fixing bacilli from plant rhizospheres in Beijing region. *J Appl Microbiol.* 99:1271–1281.
- Ditjentan. 2004. *Profil Kedelai (Glicine max) Buku 1*. Jakarta: Direktorat Kacang-Kacangan dan Umbi-Umbian, Direktorat Jenderal Bina Produksi Tanaman Pangan, Departemen Pertanian.

- Dobereiner J, Pedrosa F. 1987. *Nitrogen-fixing bacteria in non-leguminous crop plants*. Madison, USA: Science Tech.
- El-Mahrouk ME, Belal E. 2007. Production of indole acetic acid (bioauxin) from *Azotobacter sp.* isolate its effect on callus induction of *Diffenbachia maculate* cv. Marianne. *Acta Biol Szeged*. 51(1):53–59.
- El-Tarabily K. 2003. An endophytic chitinase-producing isolate of *Actinoplanes missouriensis*, with potential for biological control of root rot of lupin caused by *Plectosporium tabacinum*. *Aust J Bot*. 51:257–266.
- Faeth S. 2002. Are endophytic defensive plant mutualists. *Oikos*. 98:25–36.
- Farzana Y, Radziah O, Kamaruzaman Z, Mohd S. 2009. Characterization of beneficial properties of plant growth-promoting rhizobacteria isolated from sweet potato rhizosphere. *African J Microbiol Res*. 3(11):815–820.
- Fischbach M, Clardy J. 2007. One pathway, many products. *Nat Chem Biol*. 3:353–355.
- Garbeva P, van Veen J, van Elsas J. 2004. Microbial diversity in soil: Selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Ann Rev Phytopathol*. 42:243–270.
- Gardner F, Pearce R, Mitchell R. 1991. *Physiology of Crop Plants*. Sjamsuddin E, Baharsjah YS, Penerjemah, editor. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Gaur A, Mathur R, Sadasivam K. 1980. Effect of organic materials and phosphate-dissolving culture on the yield of wheat and greengram. *Indian J Agron*. 25:501–503.
- Giller K. 2001. *Nitrogen Fixations in Tropical Cropping Systems*. 2nd ed. Willingford, Oxen, UK: CAB International.
- Goldstein AH. 1986. Bacterial solubilization of mineral phosphates: Historical perspective and future prospects. *Am J Altern Agric*. 1(2):51–57.
- Goodfellow M, Cross T. 1984. *Classification in the Biology of*

- Actinomycetes*. Goodfellow M, Mordaski M, Williams S, editor. London: Academic Press.
- Gruen H. 1959. Auxin and fungi. *Annu Rev Plant Physio*. 10:405–440.
- Gutierrez-Manero F, Acero N, Lucas J, Probanza A. 1996. The influence of native rhizotobacteria on European alder (*Alnus glutinosa* (L) Haertn) II characterisation and biological assays of metabolites from growth promoting and growth inhibiting bacteria. *Plant Soil*. 182:67–74.
- Hallmann J, Quadt-Hallmann A, Mahafee W, Kloepper J. 1997. Bacterial endohyete in agricultural crops. *Can J Microbiol*. 43:895–914.
- Hamby M. 2001. M.S. thesis. Moscow: University of Idaho.
- Hanafiah, Anas, Napoleon, Ghoffar. 2005. *Biologi Tanah: Ekologi dan Mikrobiologi Tanah*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Harjadi S. 2009. *Zat Pengatur Tumbuh: Pengenalan dan Petunjuk Penggunaan pada Tanaman*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Haryanti B, Santoso M. 2000. Pertumbuhan dan hasil cabai merah (*Capsicum annum*) pada andisol yang diberi mikoriza, pupuk fosfor dan zat pengatur tumbuh [tesis]. Malang: Program Studi Ilmu Tanaman, Pascasarjana Universitas Brawijaya.
- Hindersah R, Arief D, Sumarni Y. 2000. Kontribusi hormonal *Azotobacter chroococcum* pada pertumbuhan kecambah jagung dalam kultur cair. Di dalam: *Prosiding Seminar Nasional Bioteknologi Pertanian*. Yogyakarta.
- Husen E, Wahyudi A, Suwanto A, Giyanto. 2011. Growth enhancement and disease reduction of soybean by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase-producing *Pseudomonas*. *Am J Appl Sci*. 8:1073–1080.
- Junaedi W. 2011. Uji daya hasil galur-galur generasi lanjut kacang tanah (*Arachis hypogaera* L.) tahan penyakit bercak

- daun [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Kaci Y, Heyraud A, Barakat M, Heulin T. 2005. Isolation and identification of an EP producing *Rhizobium* strain from arid soil (Algeria): characterization of its EPS and the effect of inoculation on wheat rhizosphere soil structure. *Res Microbiol.* 156:522–530.
- Katznelson H, Peterson E, Rovatt J. 1962. Phosphate dissolving microorganisms on seed and in the root zone of plants. *Can J Bot.* 40:1181–1186.
- Keneni A, Assefa F, Prabu P. 2010. Isolation of phosphate solubilizing bacteria from the rhizosphere of Faba bean of Ethiopia and their abilities on solubilizing insoluble phosphate. *J Agro Sci Technol.* 12:79–89.
- Kennedy IR, Choudhury A, Keckes M. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in cropfarming system: Can their potential for plant growth promotion be better exploited. *Soil Biol Biochem.* 36:1229–1244.
- Kennedy I, Choudhury A, Keckes M. 2004. Non-symbiotic bacterial diazotrophs in cropfarming system: Can their potential for plant growth promotion be better exploited. *Soil Biol Biochem.* 36:1229–1244.
- Khalid A, Tahir S, Arshad M, Zahir Z. 2005. Relative efficiency of rhizobacteria for auxin biosynthesis in rhizosphere and non-rhizosphere soils. *Austral J Soil Res.* 42:921–926.
- Khan A, Jilani G, Akhtar M, Naqvi S, Rasheed M. 2009. Phosphorus solubilizing bacteria: Occurrence, mechanisms and their role in crop production. *J Agric Biol Sci.* 1(1):48–58.
- Klessig D, Malamy J. 1994. The salicylic acid signal in plants. *Plant Mol Biol.* 26:1439–1458.
- Kloepper J. 1993. *Plant Growth Promoting Rhizobacteria as Biological Control Agents*. Meeting F, editor. New York: Marcel Deker.
- Kloepper J, Beauchamp C. 1992. A review of issues related to

- measuring of plant roots by bacteria. *Can J Microbiol.* 38:1219–1232.
- Kloepper J, Lifshitz R, Schroth M. 1988. Pseudomonas inoculants to benefit plant production. *ISI Atlas Sci Anim Plant Sci.*:60–64.
- Kopp E, Ghosh S. 1994. Inhibition of NF- κ B by sodium salicylate and aspirin. *Science (80-)*. 265:956–959.
- Kyuma K. 2004. *Paddy Soil Science*. Kyoto: Kyoto University Press and Trans Pacific Press.
- Lakitan B. 1996. *Fisiologi Pertumbuhan dan Perkembangan Tanaman*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada.
- Lea-Madi, Kessel M, Sadovnik E, Henis Y. 1988. Electron microscopic studies of aggregation and pellicle formation in *Azospirillum* spp. *Plant Soil*.(109):115–121.
- Leopold A, Kriedemann P. 1975. *Plant Growth and Development*. New Delhi: Tata McGraw Hill Pub. Co. Ltd.
- Louw H, Webly D. 1959. A study of soil bacteria dissolving certain mineral phosphate fertilizer and related compounds. *J Appl Bact.* 22:227–233.
- Lukikariati S, Indriyani L, Susilo A, Anwaruddinsyah M. 1996. Pengaruh naungan konsentrasi indo butirrat terhadap pertumbuhan batang bawah manggis. *J Hortik.* 6(3):220–226.
- Lynch J. 1983. *Soil Biotechnology*. London: Blackwell Sci. Pub. Co.
- Maier R, Pepper IL, Gerba CP. 2009. *Environmental Microbiology*. New York: Elsevier.
- Maor R, Haskin S, Kedmi H, Sharon A. 2004. Production of Indole 3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. Aesschynomeme. *Appl Environ Microbiol.* 70:1852–1854.
- Meyer J, Azelvandre P, Georges C. 1992. Iron metabolism in Pseudomonas: Salicylic acid, a siderophore of *Pseudomonas*

fluorescens CHA0. *BioFactors*. 4:23–27.

- Mirza M, Ahmad W, Latif F, Hurat J, Bally R, Normand, Malik K. 2001. Isolation, partial characterization, and the effect of plant growth promoting bacteria (PGPB) on micro-propagated sugarcane in vitro. *Plant Soil*. 237:47–54.
- Neillands R. 1995. *Walking Through France*. France: Quiller Press, The Limited.
- Nguyen C, Yan W, Le-Tacon F, Lapyire F. 1992. Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotiv and dicaryotic mycellia of the ectomycorrhizal fungus laccaria bicolor (Maire) PD Orton. *Plant Soil*. 143:193–199.
- Noel RK, Ludwig W, Whitman WB, Hedlund BP, Paster BJ, Staley JT, Ward N, Brown D. 2011. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. New York: Springer Verlag.
- Nurhasanah D. 2012. Pemeriksaan asumsi analisis ragam [skripsi]. Bogor: Departemen Statistika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Nursoid. 2008. *Kemampuan Azospirillum sp. JG3 dalam Menghasilkan Lipase pada Medium Campuran Dedak dan Onggok dengan Waktu Inkubasi Berbeda*. Purwokerto: Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman.
- Okazaki T, Takahashi K, Kizuka M, Enokita R. 1995. Studies on actinomycetes isolated from plant leaves. *Annu Rev Sankyo Res Lab*. 47:47–106.
- Oskay M, Tamer A, Azeri C. 2004. Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *African J Biotechnol*. 3(9):441–446.
- Park M, Kim C, Yang J, Lee H, Shin W, Kim S, Sa T. 2005. Isolation and characterization of diazotrophic growth promoting bacteria from rhizosphere of agricultural crops of Korea. *Microbiol Res*. 160:127–133.
- Pattern C, Glick B. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole

- acetic acid in development of the host plant root system. *App Env Microbiol.* 69:3795–3801.
- Paul E, Clark F. 1989. *Phosphorus Transformation in Soil*. New York: Academic Press, Inc. Harcourt Brace Jovanovich.
- Pikovskaya R. 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with the vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya.* 17:362–370.
- Premono E, Widyastuti R, Anas I. 1992. *Pengaruh Bakteri Pelarut P terhadap Serapan Kation Unsur Mikro Tanaman Jagung pada Tanah Masam*. Bandung: Makalah PIT Permai.
- Prihmantoro H. 2007. *Memupuk Tanaman Sayur*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Purwono L, Purnamawati. 2007. *Budidaya Tanaman Pangan*. Jakarta: Penerbit Agromedia.
- Rademacher W. 1994. Gibberellin formation in microorganisms. *Plant Growth Reg.* 5:303–314.
- Rao N, Subba S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Rao, Subba. 2010. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Susilo H, Penerjemah, editor. Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Ratlidge C, Macham L, Brown K, Marshall B. 1974. Iron transport in Mycobacterium smegmatis: A restricted role for salicylic acid in the extracellular environment. *Biochim Biophys.* 372:39–51.
- Reeves M, Neilands P, Ballows A. 1983. Absence of Siderophore activity in *Leginella* sp. grown in iron deficient media. *J Bacteriol.* 154:324–329.
- Reiter B, Pfeifer U, Schwab H, Sessitsch A. 2002. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl Environ Microbiol.* 68(5):2261–2268.
- Ridwan, Akdon. 2010. *Rumus dan Data dalam Analisis Data*

Statistika. Bandung: Alfabeta.

- Rukmana R, Yuniarsih Y. 1996. *Kedelai Budidaya dan Pascapanen*. Yogyakarta: Kanisius.
- Ryu R, Patten C. 2008. Aromatic Amino acid-dependant expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am Soc Microbiol*. 190(21):1–5.
- Saraswati R, Sumarno S. 2008. Pemanfaatan mikroba penyubur tanah sebagai komponen teknologi pertanian. *Iptek Tanam Pangan*. 3(1):41–58.
- Sardi P, Saracchi M, Quaroni S, Petrolini B, Borgonovi G, Merli S. 1992. Isolation of the endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Appl Environ Microbiol*. 58(8):2681–2691.
- Sari F. 2005. Pengaruh konsentrasi dan waktu aplikasi giberelin terhadap bibit, pertumbuhan dan produksi padi sawah (*Oryza sativa* L.) [skripsi]. Bogor: Program Studi Agronomi, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Sari Y. 2010. Pengaruh konsentrasi GA3 dan pemupukan NPK terhadap keragaan tanaman cabai sebagai tanaman hias pot [skripsi]. Bogor: Departemen Agronomi dan Hortikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Saribay G. 2003. Growth and nitrogen fixation dynamics of *Azotobacter chroococcum* in nitrogenfree and OMW containing medium [thesis]. Turkey: Department of Food Engineering The Middle East Technical University.
- Schaad N, Jones J, Chun W. 2001. *Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria*. St Paul, Minnesota: APS Press.
- Schroth M, Weinhold A. 1986. Root colonizing bacteria and plant health. *Hort Sci*. 21:1295–1298.
- Sessitsch A, Coenye T, Sturz A, Vandamme P, Barka E, Salles J, Van Elsas J, Faure D, Reiter BG. 2005. *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium

- with plant-beneficial properties. *Int J Syst Evol Microbiol.* 55:1187–1192.
- Sgyroy V, Cassa N, Masciarely O, del Papa M, Lagares A, Luna V. 2009. Isolation and characterization of endophytic plant growth-promoting (PGBB) or stress homeostasis-regulating (PSHB) bacteria associated to the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Appl Microb Biotechnol.* 85:371–381.
- Shanmugam K, Valentine R. 1975. Microbial production on ammonium ion from nitrogen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 72:136–139.
- da Silva K, Nobrega RSA, Lima AS, Barberi A, Moreira FM de S. 2011. Density and diversity of diazotrophic bacteria isolated from Amazonian soils using N-free semi-solid media. *Sci Agric (Piracicaba, Braz).* 68(5):518–525.
- Silva T, Melloni. 2011. Densidade e diversidade fenotípica de bactérias diazotróficas não simbióticas em solos da Reserva Biológica Serra dos Teledos, Itajuba (MG). *Rev Bras Ci Solo.* 35:359–371.
- Sokol P, Lewis C, Dennis J. 1992. Isolation of a novel siderophore from *Pseudomonas cepacia*. *J Med Microbiol.* 36:184–189.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. 2007. Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS Microbiol Rev.* 31:425–448.
- Sparling G. 1998. *Soil Microbial Biomass, Activity and Nutrient Cycling as Indicator of Soil Health*. Pamkhurst C, Double B, Gupta V, editor. Wallingford: CABI Publishing.
- Strobel G. 2003. Endophytes as sources of bioactive products. *Microbes Infect.* 5:535–544.
- Sudaryanto T, Swastika DKS. 2007. *Ekonomi Kedelai di Indonesia*. Bogor: Badan Penelitian dan Pengembangan Tanaman Pangan.
- Sutariati G. 2006. Perlakuan benih dengan agens biokontrol untuk pengendalian penyakit antraknosa, peningkatan hasil

- dan mutu benih cabai [disertasi]. Bogor: Program Pascasarjana Institut Pertanian Bogor.
- Taechowisan T, Peberdy J, Lumyong S. 2003. Isolation of endophytic actinomyetes from selected plants and their antifungal activity. *World J Microbiol Biotechnol.* 19:381–385.
- Tenuta M. 2006. Plant growth promoting rhizobacteria: prospect for increasing nutrient acquisition and disease control. http://www.umanitoba.ca/afs/agronomists_conf/2003/pdf/tenuta_rhiz_obacteria.pdf.
- Thakuria D, Talukdar N, Goswami C, Hazarika S, Boro R, Khan M. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere in rice grown in acidic soil from Assam. *Curr Sci.* 86:978–985.
- Tokala R, Strap J, Jung C, Crawford D, Salove M, Deobald L, Bailey J, Morra M. 2002. Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving *Streptomyces lydicus* WYEC108 and the pea plant (*Pisum sativum*). *Appl Env Microbiol.* 68:2161–2171.
- Tudzynski B. 2005. Gibberellin biosynthesis in fungi: Genes, enzymes, evolution, and impact on biotechnology. *Appl Microbiol Biotechnol.* 66:597–611.
- Turner G, Gibson A. 1980. *Measurement of Nitrogen Fixation by Indirect Means*. Bergensen F, editor. New York: John Willey & Sons, Inc.
- Venkataraman L, Madhavi-Devi K, Mahadevaswamy M, Mohammed-Kunhi A. 1982. Utilization of rural wastes for algal biomass production with *Scenedesmus acutus* and *Spirulina plantensis* in India. *Agric Wastes.* 4(2):117–130.
- Vessey J. 2003. Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil.* 255:571–586.
- Visca P, Ciervo A, Sanfilippo V, Orsi N. 1993. Iron-regulated salicylate synthesis by *Pseudomonas* spp. *J Gen Microbiol.* 139:1995–2001.

- Vobis G. 1997. *Morphology of Actinomycetes*, in *Atlas of Actinomycetes*. Miyadoh S, Hamada S, Hotta K, Kudo T, Seino A, Vobis G, Yokota A, editor. Japan: Asakura Publishing Co.
- Waksman S. 1967. *The Actinomycetes: A Summary of Current Knowledge*. New York: Ronald Press.
- Weissmann G. 1991. Aspirin. *Sci Am*. 264:84.
- Widawati. 2014. The effect of salinity to activity and effectivity phosphate solubilizing bacteria on growth and production of paddy. Di dalam: *Proceeding International Conference on Biological Science*. Yogyakarta: Faculty of Biology Universitas Gadjah Mada.
- Widawati S, Suliasih. 2006. Augmentasi bakteri pelarut fosfat (BPF) potensial sebagai pemicu pertumbuhan caysin (*Brassica caventis* Ocd.) di tanah marginal. *Biodiversitas*. 7(1):10–14.
- Wood M, Stevens F. 1996. The Fungi of California [diakses 2017 Des 1]. <https://www.mykoweb.com/CAF/intro.html>.
- Wu P, Zhang G, Ladha J, McCouch S, Huang N. 1995. Molecular-marker-facilitated investigation on the ability to stimulate N₂ fixation in the rhizosphere by irrigated rice plant. *Theor Appl Genet*. 91:1171–1183.
- Yamaguchi S. 2008. Gibberellin metabolism and its regulation. *Annu Rev Plant Biol*. 59:2225–2511.
- Zakry F, Halimi M, Abdul Rahim K, Osumanu H, Wong S, Franklin R, Stephen L, Make J. 2010. Isolation and plant growth promoting properties of Rhizobacterial Diazotrophs from pepper vine. *Malaysia Appl Biol*. 39(2):41–45.

TENTANG PENULIS



Dr. Ir. Asmiaty Sahur, MP, lahir di Makassar pada tanggal 10 Oktober 1969. Menyelesaikan pendidikan menengah atas di SMA Negeri 10 Makassar pada tahun 1987. Melanjutkan pendidikan Sarjana (S1) di Jurusan Agronomi (Budidaya Tanaman) Fakultas Ilmu-Ilmu Pertanian Universitas Hasanuddin dan selesai pada tahun 1992. Pendidikan Magister (S2) diselesaikan tahun 1996 pada Program Pascasarjana Sistem-Sistem Pertanian Kajian Bioteknologi Tanaman Universitas Hasanuddin. Pada tahun 2017 menyelesaikan Program Doktorat (S3) pada Ilmu Tanaman Kajian Bioteknologi Tanaman Sereal Universitas Hasanuddin. Penulis menjadi staf pengajar sejak tahun 1993 pada Jurusan Agronomi Fakultas Pertanian Universitas Hasanuddin dan Program Magister Agroteknologi Universitas Hasanuddin sejak tahun 2021. Penulis mulai aktif menulis karya ilmiah terutama terkait kompetensi bidang ilmu Ekofisiologi Tanaman dan Bioteknologi. Artikel yang telah diterbitkan, antara lain, Efek Inokulasi *Actinomyces* pada Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kedelai (*Glycine max* Merril L.) pada tahun 2018, *Effect of Seed Inoculant with Actinomyces and Rhizobium Isolated From Indigenous Soybean and Rhizosphere on Nitrogen Fixation, Growth and Yield of Soybean* pada tahun 2018, *Study of Climate Determination Analysis Based on Pallontara/Papananrang and*

Rainfall Opportunities in Sidrap District pada tahun 2019, *Growth and Production of Chili (Capsicum annum L.) on the Application of Trichoderma sp. and Azolla Liquid Organic Fertilizer* pada tahun 2020, *Drought Levels of Several Soybeans Variety (Glycine max L. Merril)* pada tahun 2020, *Growth Response of Pepper (Piper nigrum L.) on Application Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) and the Shallot Filtrate* pada tahun 2020, *Growth and Production of Cayenne Pepper (Capsicum frutescens L.) on Various Concentrations of Biofertilizer and NPK Fertilizer* pada tahun 2020, *The Application of Biopirring Using Trichoderma and Streptomyces spp. on the Germination Stage of Soybean* pada tahun 2020, dan *Pengantar Pemuliaan Tanaman* pada tahun 2021. Selain menulis buku, penulis juga aktif pada organisasi profesi seperti PERAGI dan PERHORTI.