

KELIMPAHAN, KARAKTER DAN POTENSI BAKTERI PENGHASIL HORMON TUMBUH IAA DAN PELARUT FOSFAT PADA TANAMAN CENGKEH DI BULELENG, BALI

Sarjiya Antonius¹⁾, Desak Ketut Tristiana Sukmadewi²⁾, Suharjono²⁾ dan Tirta Kumala Dewi¹⁾

¹⁾Puslit Biologi LIPI, Jl. Raya Jakarta-Bogor Km.46 Cibinong

²⁾Universitas Brawijaya Malang, Jalan Veteran, Malang, Jawa Timur

email: sarjiya.antonius@lipi.go.id

ABSTRAK

Mikroba perakaran pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR) akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan dalam upaya meningkatkan produksi tanaman maupun untuk memperbaiki kesehatan tanah. Diantara kelompok mikroba PGPR, mikroba penghasil hormon tumbuh dan pelarut fosfat mempunyai manfaat penting dalam mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia dan menjaga kesehatan tanah. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kelimpahan, karakter dan potensi mikroba penghasil IAA dan pelarut fosfat pada tanaman cengkeh. Tahapan penelitian meliputi pengambilan sampel tanah di kabupaten Buleleng, Bali serta pengukuran parameter lingkungannya, isolasi bakteri penghasil hormon IAA dan pelarut fosfat, uji potensi bakteri penghasil hormon IAA dan pelarut fosfat. Hasil pengamatan dengan metode penumbuhan pada media spesifik (diperkaya) menunjukkan bahwa pada daerah perakaran cengkeh di Buleleng mengandung bakteri penghasil IAA ($6,4 \times 10^6$ CFU/g) dan bakteri pelarut fosfat ($8,2 \times 10^4$ CFU/g). Berdasarkan uji lanjut diketahui bahwa isolat bakteri TCBI 4 menghasilkan IAA tertinggi 3,5 ppm pada waktu inkubasi 72 jam. Berdasarkan uji estimasi fosfat terlarut diketahui isolat TCBP 6 mampu melarutkan fosfat sebesar 1687,77 ppm pada waktu inkubasi tujuh hari. Oleh karena itu, bakteri PGPR mempunyai peranan penting dalam menunjang pertumbuhan dan produksi tanaman cengkeh.

Kata Kunci : Bakteri perakaran, cengkeh, IAA, pelarut fosfat.

PENDAHULUAN

Pengurangan penggunaan bahan kimia pada pertanian membawa banyak manfaat untuk memperbaiki sifat biokimia tanah. Aplikasi bahan organik yang diperkaya dengan mikroba penyubur perakaran pada berbagai tanah pertanian dan pada tanah tercemar dapat meningkatkan aktivitas respirasi dan enzimatis tanah (Antonius *et al.*, 2007). Rhizosfer merupakan zona dalam tanah tempat mikroba dan akar tanaman hidup secara efektif berinteraksi. Sistem perakaran umumnya berasosiasi dengan tanah di sekitarnya tentunya sangat berbeda dengan kondisi tanah tanpa sistem perakaran. Asosiasi antara sistem perakaran dengan mikroba tanah dapat terjadi baik secara langsung maupun tidak langsung.

Mikroba perakaran pemacu pertumbuhan tanaman (PGPR), akhir-akhir ini banyak dimanfaatkan dalam upaya meningkatkan produksi tanaman maupun untuk memperbaiki kesehatan tanah. Diantara kelompok mikroba PGPR, mikroba penghasil hormon tumbuh dan pelarut fosfat mempunyai manfaat penting dalam mengurangi ketergantungan pupuk kimia dan menjaga kesehatan tanah. Bakteri pelarut fosfat berperan dalam penyuburan tanah karena mampu melakukan mekanisme pelarutan fosfat dengan mensekresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti oksalat, suksinat, fumarat, dan malat. Asam organik ini akan bereaksi dengan bahan pengikat fosfat seperti Al^{3+} , Fe^{3+} , Ca^{2+} , atau Mg^{2+} membentuk khelat organik yang stabil sehingga mampu membebaskan ion fosfat, sehingga dapat diserap oleh tanaman (Wibowo dan Yoga, 2011). Mikroba juga berperan sebagai penghasil fitohormon yang berperan dalam penyediaan dan penyerapan unsur hara bagi tanaman. Mikroba ini dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan memproduksi hormon IAA. Hormon IAA adalah auksin endogen yang berperan dalam perkembangan akar, menghambat pertumbuhan tunas

samping, merangsang terjadinya absisi, serta berperan dalam pembentukan jaringan xylem dan floem (Silitonga *et al.*, 2008). Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) adalah salah satu komoditi perkebunan yang memiliki peranan penting bagi pendapatan devisa negara melalui cukai rokok dan ekspor. Produksi cengkeh dari tahun ke tahun selalu mengalami peningkatan, terhitung dari tahun 2008 produksi cengkeh di Indonesia yaitu sebanyak 70.538 ton meningkat menjadi 99.890 ton pada tahun 2012. Beberapa provinsi di Indonesia seperti Provinsi Bali merupakan salah satu penghasil cengkeh yang cukup besar di Indonesia, dengan penghasilan cengkeh pada tahun 2012 sebesar 3092 ton (Ditjenbun, 2012). Walaupun produksi cengkeh terus meningkat, Indonesia masih tetap mengimpor cengkeh untuk memenuhi kebutuhan dalam negeri.

Perkebunan cengkeh, termasuk perkebunan yang rutin menggunakan pupuk untuk proses pertumbuhannya. Selama ini pupuk yang digunakan adalah pupuk kimia sintetis. Oleh karena itu perlu dilakukan penggalan potensi rizosfer di perkebunan cengkeh ini yang akan dikonsentrasikan pada isolasi dan karakterisasi mikroba indigenus yang diharapkan dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman cengkeh maupun tanaman lainnya tanpa membahayakan lingkungan.

BAHAN DAN METODE

Pengambilan Sampel Tanah

Sampel tanah diambil pada perkebunan cengkeh di Desa Kayuputih, Kecamatan Banjar, Kabupaten Buleleng. Sampel tanah diambil pada daerah rizosfer atau sekitar daerah perakaran. Sampel diambil pada kedalaman 0-10 cm dari permukaan akar. Parameter lingkungan yang diukur saat pengambilan sampel yaitu tinggi pohon, diameter pohon, suhu, pH, kelembaban serta bahan organik tanah.

Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Penghasil Hormon IAA

Sampel tanah ditimbang 25 g dan disuspensikan dengan 225 ml garam fisiologis steril pada masing-masing Erlenmeyer (pengenceran 10^{-1}). Sampel divorteks dengan kecepatan 120 rpm selama 60 detik. Selanjutnya suspensi sampel diencerkan sampai konsentrasi 10^{-6} . Suspensi sampel diinokulasikan pada media *Tryptic Soy Agar* yang telah ditambahkan dengan triptofan 200 µg/ml secara *spread plate* dan diinkubasi selama tiga hari (de-Bashan *et al.*, 2008). Bakteri yang mampu menghasilkan IAA diuji secara kualitatif dengan metode kolorimetri menggunakan reagen *Salkowski* (Gordon dan Weber, 1951).

Percobaan untuk uji potensi bakteri penghasil hormon IAA secara kuantitatif menggunakan rancangan acak lengkap (RAL). Perlakuan pada percobaan ini adalah jenis isolat dan waktu inkubasi. Uji potensi bakteri penghasil hormon IAA secara kuantitatif dilakukan menggunakan metode spektrofotometri. Analisis dengan metode spektrofotometri menggunakan 100 mL media *Tryptic Soy Broth* (TSB) 50% (*half-strength*) (Gravel *et al.*, 2007). Media yang telah steril tersebut ditambahkan precursor *L-Tryptophan* 200 ppm. Satu ml supernatan dari sampel hasil *sentrifuge* selama 10 menit pada 8.000 rpm, kemudian ditambahkan 2 ml larutan reagen *Salkowski*, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit dan selanjutnya absorbansi diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA dari sampel di hitung berdasarkan kurva standar dengan standar IAA murni (Gravel *et al.*, 2007). Data dianalisis dengan *One Way Analysis of Varians* (ANOVA) dengan $\alpha \leq 0,05$. Hasil yang berbeda nyata dilakukan uji lebih lanjut. Analisis data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS 16.0 for Windows.

Isolasi dan Uji Potensi Bakteri Pelarut Fosfat

Sampel tanah masing-masing ulangan ditimbang sebanyak 25 g kemudian disuspensikan dengan 225 ml garam fisiologis steril dalam Erlenmeyer. Suspensi sampel dihomogenasi dengan

cara divorteks dengan kecepatan 120 rpm selama 60 detik. Suspensi sampel dibuat seri pengenceran sampai konsentrasi 10^{-6} . Suspensi sampel sebanyak 0,1 ml diratakan (*spread plate*) pada media Pikovskaya (PK). Media Pikovskaya terdiri atas glukosa 5 g, NaCl 0,1 g, $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 2,5 g, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 0,25 g, KCL 0,1 g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,025 g, MnSO_4 0,25 g, FeSO_4 0,25 g, *yeast extract* 0,25 g dan agar 14 g dalam 1000 ml akuades. Sampel tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 hari dan diamati zona bening yang muncul di sekitar koloni (Ines *et al.*, 2014). Koloni bakteri yang menunjukkan zona bening tersebut kemudian dikultur ulang ke dalam media yang baru. Setelah itu dilakukan uji indeks kelarutan fosfat dengan menumbuhkan bakteri sebanyak tiga ulangan dan diinkubasi selama 4 hari. Sampel dari hasil sampling kemudian disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 10000 rpm. Sebanyak 1 ml supernatan ditambahkan 10 ml chloromolibdic dan chlorostannous sebanyak 0,1 ml, ditera sampai 50 ml dan diinkubasi selama 10 menit (Grover, 2003; Ahmad *et al.*, 2006). Setelah diinkubasi dilakukan pengukuran dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Data dianalisis menggunakan *One-Way Analysis of Varians (ANOVA)* dengan $\alpha \leq 0,05$ hasil yang berbeda nyata dilakukan uji lanjutan. Data dianalisis dengan menggunakan *software SPSS 16 for windows*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Lingkungan Tanah Rhizosfer Tanaman Cengkeh Di Buleleng, Bali

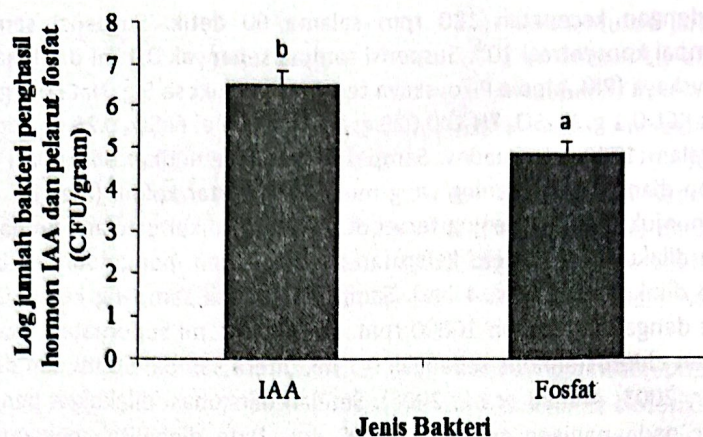
Karakteristik lingkungan di sekitar pertanaman cengkeh disajikan pada Tabel 1. Tanah yang diambil dari Buleleng memiliki kandungan bahan organik yang cukup tinggi, sehingga memiliki kapasitas menyerap air (*water holding capacity*) lebih tinggi. Hal ini mendorong pertumbuhan mikroba, sehingga bahan organik terdekomposisi lebih cepat dan menurunkan pH tanah. Lokasi Buleleng yang cukup tinggi menyebabkan suhu tanah lebih rendah.

Tabel 1. Parameter lingkungan kebun cengkeh di Buleleng

Parameter Lingkungan	Hasil Pengukuran
Kelembaban tanah (%)	31,94
pH tanah	4,845
Bahan organik tanah (%)	6,65
Ketinggian tempat (m)	863
Temperatur tanah ($^\circ\text{C}$)	21,55
Intensitas cahaya (KLux)	15,27

Jumlah Bakteri Penghasil Hormon IAA dan Bakteri Pelarut Fosfat Tanah Rhizosfer Tanaman Cengkeh

Jumlah bakteri penghasil hormon IAA $6,4 \times 10^6$ CFU/g, sedangkan jumlah bakteri pelarut fosfat $8,2 \times 10^4$ CFU/g (Gambar 1). Produksi IAA akan meningkat pada saat kondisi lingkungan pH asam (Dewi *et al.*, 2015). Hal ini sesuai dengan nilai pH tanah di Buleleng yang cukup rendah (4,845). Keberadaan mikroba pelarut fosfat dari suatu tempat berkaitan dengan banyaknya jumlah bahan organik yang secara langsung memengaruhi jumlah dan aktivitas hidupnya. Hal ini sesuai dengan lokasi pengambilan sampel di Buleleng yang memiliki nilai bahan organik yang cukup tinggi.



Gambar 1. Jumlah bakteri penghasil hormon IAA dan pelarut fosfat tanah rhizosfer tanaman Buleleng

Akar tanaman mempengaruhi kehidupan mikroba dan mikroba yang berada dekat dengan daerah perakaran akan lebih aktif daripada yang jauh dari daerah perakaran. Secara umum bakteri pelarut fosfat yang dominan diisolasi dari rhizosfer tanah termasuk ke dalam golongan mikroba aerob pembentuk spora, hidup pada kisaran pH 4-10,6 (Ginting *et al.*, 2009). Populasi bakteri pelarut fosfat umumnya lebih rendah pada daerah yang beriklim kering dibandingkan dengan daerah yang beriklim sedang. Rata-rata suhu di Buleleng 21,55°C, sehingga memiliki iklim lebih sejuk. Begitu pula dengan pH tanah 4,8 termasuk ke dalam rentang pH yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri pelarut fosfat.

Potensi Bakteri Penghasil Hormon IAA Tanah Rhizosfer Tanaman Cengkeh

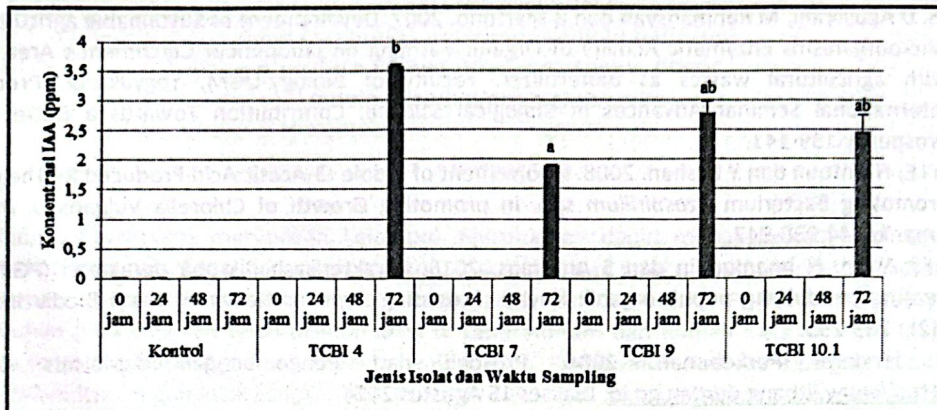
Berdasarkan hasil uji kualitatif IAA pada *screening* awal, dilakukan uji kuantitatif lebih lanjut menggunakan spektrofotometer. Berdasarkan analisa kuantitatif menggunakan spektrofotometer dilakukan sampling pada waktu inkubasi 0, 24, 48 dan 72 jam didapatkan 4 isolat yang mampu menghasilkan IAA yaitu isolat TCBI 4, TCBI 7, TCBI 9 dan TCBI 10.1. Hasil tertinggi didapatkan dari isolat TCBI 4 (3,58 ppm) pada waktu inkubasi 72 jam (Gambar 2). Hasil yang didapatkan tergolong rendah. Hal ini diduga karena kondisi lingkungan di Buleleng sudah cukup baik untuk pertumbuhan tanaman, sehingga bakteri yang didapat dari lokasi tersebut tidak memiliki kemampuan untuk menghasilkan hormon IAA dalam jumlah yang tinggi. Hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri melimpah pada fase stasioner. Produksi IAA akan meningkat pada saat kondisi pertumbuhan menurun, ketersediaan karbon yang terbatas dan dalam kondisi lingkungan pH asam. Kondisi tersebut terjadi pada saat bakteri memasuki fase stasioner (Dewi *et al.*, 2015).

Potensi Bakteri Pelarut Fosfat Tanah Rhizosfer Tanaman Cengkeh

Dari hasil isolasi awal, kemudian diuji lebih lanjut berdasarkan indeks kelarutan fosfatnya, sehingga didapatkan 4 isolat terbaik untuk uji estimasi fosfat terlarut. Berdasarkan hasil uji estimasi fosfat terlarut didapatkan hasil tertinggi pada isolat TCBP 6 (1687,77 ppm) dibanding isolat lainnya (Gambar 2). Isolat TCBP 6 mampu melarutkan fosfat dengan konsentrasi yang tergolong tinggi dengan waktu inkubasi 7 hari. Keberadaan mikroba pelarut fosfat dipengaruhi jumlah bahan organik yang ada di lingkungannya (Ginting *et al.*, 2009).

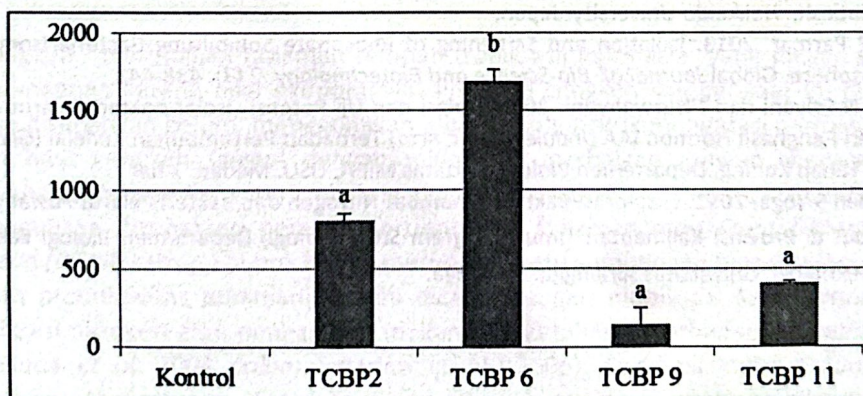
Hal ini sesuai sampel tanah yang diambil dari Buleleng yang memiliki kandungan bahan organik cukup tinggi. Selain itu suhu rendah 21,55°C serta pH tanah 4,8 termasuk ke dalam rentang pH yang sesuai untuk pertumbuhan bakteri pelarut fosfat (pH 4 - 10,6) (Ginting *et al.*,

2009). Faktor-faktor tersebut diduga sebagai pemicu isolat TCBP 6 sehingga mampu melarutkan fosfat lebih tinggi dibandingkan isolat lainnya. Empat isolat lainnya didapatkan hasil yang tidak berbeda nyata berturut-turut adalah TCBP 2 (805,98 ppm), TCBP 11 (307,98 ppm) dan TCBP 9 (151,22 ppm) (Gambar 2).



Gambar 2. Konsentrasi IAA yang dihasilkan tanaman cengkeh di Buleleng

Islam *et al.* (2006) melaporkan dengan konsentrasi Ca_3PO_4 yang sama, kemampuan melarutkan fosfat tertinggi dihasilkan oleh bakteri *Acinetobacter* sp. sebesar $524 \pm 10 \mu\text{g/ml}$ dengan waktu inkubasi 8 hari. Kemampuan isolat TCBP 6 dalam melarutkan fosfat tergolong tinggi bila dibandingkan dengan hasil yang dilaporkan Patel dan Parmar (2013) yang melakukan penelitian pada tanah rhizosfer bunga matahari. Isolasi bakteri pelarut fosfat dari tanah rhizosfer bunga matahari dengan menggunakan media yang sama didapatkan hasil tertinggi kelarutan fosfat didapatkan sebesar 167,4 mg/l oleh isolat PBSB 9 dengan waktu inkubasi selama 5 hari. Belum dilakukan identifikasi lebih lanjut belum dilakukan terhadap isolat TCBP 6, sehingga belum diketahui genus maupun spesiesnya.



Gambar 3. Konsentrasi fosfat terlarut yang dihasilkan bakteri rhizosfer tanaman cengkeh

KESIMPULAN

Daerah perakaran cengkeh di Buleleng mengandung bakteri penghasil IAA ($6,4 \times 10^6$ CFU/g) dan bakteri pelarut fosfat ($8,2 \times 10^4$ CFU/g). Isolat bakteri TCBP 4 menghasilkan IAA tertinggi 3,5 ppm dengan waktu inkubasi 72 jam. Isolat TCBP 6, yang merupakan bakteri pelarut fosfat, mampu melarutkan fosfat sebesar 1687,77 ppm dengan waktu inkubasi 7 hari.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad F, I Ahmad, F Aqil, A Ahmed Wani dan YS Sousche. 2006. Plant growth promoting potential of free-living diazotroph and other rhizobacterial isolated from Northern Indian soil. *Biothechnol. J.* 1112-1123.
- Antonius S, D Agustyani, M Rahmansyah dan B Martono. 2007. Development of Sustainable agriculture: Soil Microorganisms Enzymatic Activity of Organic Farming on jabopuncur Catchment's Area Treated with agricultural wastes as Biofertilizer. Faculty of Biology-UGM, Yogyakarta. Proceedings International Seminar Advances in Biological Science: Contribution Towards a Better Human Prosperity.139-141.
- de Bashan LE, H Antoun dan Y Bashan. 2008. Involvement of Indole -3-Acetic Acid Produced By The Growth-Promoting Bacterium *Azospirillum* spp. In promoting Growth of *Chlorella Vulgaris*. *J. Phycol of Amerika.* 44:938-947.
- Dewi TK, ES Arum, H Imamuddin dan S Antonius. 2015. Karakterisasi mikroba perakaran (PGPR) agen penting pendukung pupuk organik Hayati. Proseding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia. 1(2) : 289-295.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2004. Prospek dan Pengembangan Agribisnis Cengkeh. <http://www.litbang.deptan.go.id>. Diakses 15 Agustus 2014.
- Ginting RCB, R Saraswati dan E Husen. 2009. Mikroorganisme Pelarut Fosfat. Balittanah.litbang.pertanian.go.id. Diakses 14 Mei 2015.
- Gordon SA and RP Weber. 1951. Colometric estimation of Indole acetic acid. *Plant Physiol* 26:192-195.
- Gravel V, H. Antoun, and R.J. Tweddel. 2007. Effect indole-acetic acid (IAA) o the development of symptoms caused *Pythium ultimum* on tomato plant. *Eur J Plant Pathol* 119:457-462.
- Grover R. 2003. Rock Fosfate Solubilizing Microbes As A Source Of Nutrients For Crops. Department of Biotechnology and Environmetal Science, Thapar Institute of Engineering and Technology. Dissertation. 51 hal.
- Inès M, T Yousra, B Rajeb Asma, K Sana dan H Abdennasser. 2014. Multi-Traits Of Non-Pathogenic Fluorescent *Pseudomonas* And Evaluation Of Their Potentiel As Biocontrol Agents. *American Journal of Environmental Science* 10(2):199-209.
- Islam MdT, A Deora, Y Hashidoko, A Rahman, T Ito dan S Tahara. 2006. Isolation and Identification of Potential Phosphate Solubilizing Bacteria from the Rhizoplane of *Oryza sativa* L. cv. BR29 of Bangladesh. Hokkaido University. Japan.
- Patel D dan P Parmar. 2013. Isolation and Screening of Phosphate Solubilizing Bacteria from Sunflower Rhizosphere. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology.* 2 (3): 438-441
- Silitonga DM, N Priyani dan I Nurwahyuni. 2008. Isolasi dan Uji Potensi Isolat bakteri Pelarut Fosfat dan Bakteri Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) Terhadap Pertumbuhan Kedelai (*Glicine max* L.) Pada Tanah Kuning. Departemen Biologi, Fakultas MIPA, USU. Medan. 7 hal.
- Wibowo AM dan S Yoga. 2011. Eksplorasi Bakteri Penambat Nitrogen dan bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Gambut di Provinsi Kalimantan Timur. Program Studi Biologi, Departemen Biologi Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga. Surabaya.