

ISOLASI DAN SELEKSI RIZOBAKTERI *Pseudomonas fluorescens* UNTUK MEMACU PERTUMBUHAN BIBIT CENGKEH

Eliza Mayura dan Nasrun

Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat
Jl Tentara Pelajar no. 3, Cimanggu, Bogor
email: elizamayura@gmail.com

ABSTRAK

Pseudomonas fluorescens merupakan kelompok Rhizobakteri dapat mengkolonisasi akar dan memacu pertumbuhan tanaman. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi dan seleksi *P. fluorescens* berpotensi sebagai agens pemacu pertumbuhan bibit cengkeh. Pengujian Isolasi dan seleksi *P. fluorescens* untuk memacu pertumbuhan bibit cengkeh telah dilaksanakan di Laboratorium dan Rumah Kaca KP.Laing Balittro, Solok Sumatera Barat dari bulan Agustus sampai Desember 2015. Perlakuan *P. fluorescens* diuji pada bibit cengkeh disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan 4 ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bibit cengkeh diperlakukan dengan *P. fluorescens* secara nyata meningkatkan viabilitas pertumbuhan bibit cengkeh secara vegetatif dibandingkan tanpa *P. fluorescens* (kontrol). Hasil seleksi dari 20 strain *P. fluorescens* menunjukkan 5 strain *P. fluorescens* PFC6; PFC8; PFC14; PFC15; dan PFC16 menunjukkan kemampuan meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh lebih tinggi dibandingkan strain *P. fluorescens* lainnya dengan meningkatkan tinggi bibit dari 8,0 cm menjadi 10,4 – 12,00 cm, jumlah daun dari 4,0 daun/tanaman menjadi 9,0 – 11,0 daun/tanaman, panjang akar bibit dari 5,6 cm menjadi 10,1 – 13,5 cm; jumlah akar dari 25 akar/tanaman menjadi 32-53 akar/ tanaman dan berat basah bibit dari 1,28 g/tanaman menjadi 3,4 – 5,3 g/tanaman. Hasil percobaan ini menunjukkan bahwa pemberian 5 strain *P. fluorescens* mempunyai aktivitas yang tinggi dalam meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh.

Kata kunci : Agens hayati, Rizobakteria, *Pseudomonas fluoerescens*, bibit, tanaman cengkeh.

PENDAHULUAN

Cengkeh merupakan tanaman rempah tropik asli Indonesia yang hingga saat ini tetap menjadi primadona karena nilai ekonominya. Produksi cengkeh sampai saat ini masih rendah, diantaranya disebabkan belum menggunakan bibit unggul. Untuk mengatasi permasalahan ini perlu pemakaian bibit cengkeh unggul dengan melakukan perbaikan dengan mengacu teknologi budidaya yang telah tersedia, antara lain teknologi perbanyakan dan peremajaan bibit cengkeh.

Penggunaan Rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) sebagai pupuk hayati merupakan satu sumbangan bioteknologi dalam usaha peningkatan produktivitas tanaman. Hal ini dicapai dengan mobilisasi hara, produksi hormon tumbuh, fiksasi nitrogen atau pengaktifan mekanisme ketahanan terhadap penyakit (Wei *et al.*, 1996; Thakuria *et al.* 2004 dalam Sutariati *et al.*, 2006). Berbagai isolat *Pseudomonas sp.*, *Azospirillum sp.*, *Azobacter sp.*, *Enterobacter sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Serratia sp* diketahui berfungsi sebagai PGPR (Thur *et al.* 2004 dalam Sutariati *et al.*, 2006). Inokulasi isolat *Bacillus sp* dilaporkan meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kandungan mineral daun pisang (Jaizme-Vega *et al.* 2004 dalam Sutariati *et al.* 2006), sedangkan isolat *B. licheniformis* dan *B. pumillus* meningkatkan pertumbuhan bibit tomat dan cabai (Garcia de Salamone and Nelson, 2004 dalam Sutariati *et al.*, 2006). Inokulasi *Bacillus sp* pada bibit padi meningkatkan pertumbuhan dan produksi padi hingga 43%, sedangkan inokulasi *P. fluorescens* meningkatkan produksi hingga 100% (Thakuria *et al.*, 2004 dalam Sutariati *et al.*, 2006). Untuk itu, evaluasi kemampuan rizobakteri lokal sebagai bakteri pemacu pertumbuhan perlu dilakukan. Jika terbukti efektif, rizobakteri lokal tersebut dapat digunakan sebagai alternatif pupuk hayati (*biofertilizer*) pada budidaya tanaman di Indonesia.

Peranan PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman diduga ada hubungannya dengan kemampuan mensintesis hormone tumbuh. Isolat *Bacillus sp* dilaporkan mampu mensintesis asam indol asetat (IAA) (Thakuria *et al.*, 2004; Patten dan Glick, 2002 dalam Sutariati *et al.*, 2006) juga menghasilkan sitokinin (Garcia de Salamone and Nelson, 2004 dalam Sutariati *et al.*, 2006).

Evaluasi kemampuan isolat rizobakteri tersebut sebagai PGPR dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan bibit tanaman cengkeh perlu dilakukan. Percobaan yang dilakukan bertujuan : (1) Seleksi dan evaluasi efektivitas perlakuan Rizobakteri pada bibit cengkeh terhadap pertumbuhan bibit cengkeh, dan (2) mengevaluasi efektivitas perlakuan tersebut pada bibit cengkeh terhadap mutu fisiologis bibit terutama yang berkaitan dengan kemampuannya mengatasi masalah hambatan mekanis pada perbanyakan bibit cengkeh. Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan sebagai acuan dalam upaya peningkatan vigor bibit cengkeh.

BAHAN DAN METODE

Percobaan dilakukan di laboratorium dan rumah kaca Kebun Percobaan Laing Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Solok Sumatera Barat, dan di kebun petani terinfeksi penyakit BPKC cengkeh di Kabupaten Solok Sumatera Barat yang dilaksanakan mulai bulan Agustus sampai Desember 2015. Bahan yang digunakan terdiri atas bibit cengkeh dan media tumbuh *P.fluorescens* (King'sB).

Pengambilan isolat Rizobakteri (*Pseudomonas fluorescens*)

Agensia hayati *P. fluorescens* diperoleh dari rizosfer akar tanaman cengkeh yang sehat pada perkebunan cengkeh terserang patogen BPKC. Dari dua kebun cengkeh diambil 20 bagian akar cengkeh, dan dimasukkan ke dalam kantong plastik dan disimpan di tempat yang lembap.

Isolasi Rizobakteri (*Pseudomonas fluorescens*).

Dari setiap sampel akar cengkeh diambil 10 g akar dipotong-potong dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer volume 250 ml yang berisi 90 ml 0,1 M buffer fosfat (pH 7,0) dan dikocok selama 30 menit, dan dibiarkan selama 10 menit. Selanjutnya sampel tersebut diencerkan dengan akuades steril dengan pengenceran 10^3 dan 10^4 , dan ditumbuhkan di atas medium King's B yang telah ditambah 100 ppm sikloheksimid, dan diinkubasikan selama 48 jam pada suhu 30 °C. Koloni tunggal yang berpadar pada medium King's B di bawah UV di pindahkan ke medium King's B dan selanjutnya bakteri tersebut diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 30°C. Setiap isolat bakteri yang didapatkan diberi nomor 1 sampai 20 (Arwiyanto, 1998).

Penyediaan bahan isolat Rizobakteri (*Pseudomonas fluorescens*)

Isolat bakteri *P. fluorescens* dimurnikan dan diperbanyak pada medium cair King's B pada suhu kamar selama 48 jam dengan populasi 10^8 sel/ml (Nasrun *et al.*, 2005 dan Nasrun *et al.*, 2007), di laboratorium KP. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Laing Solok pada bulan Agustus 2015. Isolat *P.fluorescens* tersebut dipersiapkan untuk digunakan sebagai bahan uji *P.fluoresen* untuk pengujian selanjutnya.

Pengujian dan seleksi Rizobakteri (*Pseudomonas fluorescens*) meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman cengkeh di rumah kaca.

Penelitian dilakukan di Laboratorium dan rumah kaca KP.Laing Balitro Solok meliputi pengujian seleksi *P.fluorescens* memacu pertumbuhan bibit pada bibit tanaman cengkeh. Dari isolat *P.fluorescens* terpilih dilakukan uji seleksi dan efektivitasnya memacu pertumbuhan bibit cengkeh.

Isolat *P. fluorescens* diperbanyak pada medium cair King's B pada suhu kamar selama 48 jam dengan populasi 10^8 sel/ml (Nasrun, et al, 2004; 2005; 2007), di laboratorium KP. Balai Penelitian Tanaman Obat dan Aromatik Laing Solok. Isolat *P. fluorescens* tersebut dipersiapkan untuk digunakan sebagai bahan untuk pengujian selanjutnya.

Isolat *P. fluorescens* dilarutkan dalam akuades steril dengan tingkat populasi 10^8 cfu/ml. Selanjutnya bibit cengkeh berumur 4 bulan direndam dalam 100 ml larutan suspensi Rizobakteri *P. fluorescens* sebagai perlakuan selama 2 jam, dan sebagai pembanding (kontrol) bibit cengkeh direndam dalam akuades. Selanjutnya bibit cengkeh tersebut ditumbuhkan dalam polybag yang ditempatkan dirumahkaca dan disusun sesuai dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dan setiap perlakuan terdiri 4 ulangan. Selama bibit cengkeh di rumah kaca dilakukan pemeliharaan tanaman yang meliputi penyiangan dan penyiraman. Pengamatan berupa pertumbuhan tanaman terdiri atas tinggi tanaman dan jumlah cabang dan daun.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tinggi tanaman, jumlah daun dan panjang akar

Hasil penelitian sampai 95 hari setelah aplikasi strain Rizobakteri *P. fluorescens* pada bibit cengkeh secara nyata mempunyai pengaruh lebih besar merangsang dan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan bibit cengkeh dibandingkan dengan tanpa perlakuan strain *P. fluorescens* (kontrol) (Tabel 1). Strain *P. fluorescens* dapat meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh dengan tinggi bibit dari 6,00 cm menjadi 6,40 – 12,00 cm; jumlah daun dari 4,0 daun/bibit menjadi 6,0 – 11,0 daun/tanaman dan panjang akar dari 9,0 cm menjadi 12,3 – 20,2 cm (Tabel 1).

Tabel 1. Tinggi tanaman, jumlah daun dan panjang akar bibit cengkeh yang telah diinokulasi *P. fluorescens* di Rumah kaca pada 95 hari setelah aplikasi.

Strain <i>P. fluorescens</i>	Tinggi bibit (cm)	Jumlah daun (daun/tanaman)	Panjang akar (cm)
PC1	6,40 dd	6,0 d	12,3 f
PC2	8,50 cd	8,0 c	20,2 de
PC3	8,75 cd	7,5 cd	20,2 de
PC4	8,15 cd	8,0 bc	19,0 de
PC5	7,65 d	8,0 bc	17,4 e
PC6	12,00 a	11,0 ac	28,6 ab
PC7	8,65 cd	9,0 bc	20,3 de
PC8	11,11 ab	9,5 bc	24,3 bc
PC9	8,70 cd	8,0 bc	15,0 e
PC10	8,00 cd	7,0 cd	19,0 de
PC11	7,0 de	7,5 cd	16,5 de
PC12	6,70 d	7,5 cd	16,0 de
PC13	8,00 cd	7,0 cd	12,2 ef
PC14	10,40 bc	8,5 c bc	23,2 cd
PC15	10,75 bc	9,0 bc	22,0 cd
PC16	11,15 ab	10,0 ab	25,5 bc
PC17	7,65 cd	6,0 de	18,3 de
PC18	8,50 cd	6,5 de	19,5 de
PC19	7,00 d	7,0 cd	19,5 de
PC20	7,00 d	7,0 cd	16,0 de
Tanpa <i>P. fluorescens</i> (Kontrol)	6,00 d	4,0 e	9,0 f

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Strain *P. fluorescens* PC6; PC8; PC14; PC15 dan PC16 merupakan strain *P. fluorescens* yang efektif meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh dengan tinggi bibit 10,40-12,00 cm; jumlah daun 8,5 – 11,00 daun/bibit dan panjang akar 23,2 -28,6 cm dibandingkan dengan strain *P. fluorescens* lainnya (Tabel 1).

Berat basah bibit cengkeh

Perlakuan bibit cengkeh dengan strain *P. fluorescens* pada 95 hari setelah aplikasi strain *P. fluorescens* berpengaruh dalam meningkatkan berat basah bibit cengkeh setelah dibandingkan dengan bibit cengkeh tidak diperlakukan dengan strain *P. fluorescens* (kontrol) (Tabel 2). Strain *P. fluorescens* dapat meningkatkan perkembangan berat basah biomasa bibit cengkeh dari 9 g/bibit menjadi 10,0 – 53 g/bibit (Tabel 2).

Strain *P. fluorescens* PC6; PC8; PC14; PC15 dan PC16 lebih efektif meningkatkan berat basah bibit cengkeh dengan berat basah 42 – 53 g/bibit dibandingkan dengan strain *P. fluorescens* lainnya (Tabel 2).

Tabel 2. Bobot basah biomassa bibit cengkeh yang telah diinokulasi *P. fluorescens* di Rumah kaca pada 95 hari setelah aplikasi.

Strain <i>P. fluorescens</i>	Berat Basah bibit (g/tanaman)
PC1	10 f
PC2	31 de
PC3	39 bc
PC4	36 cd
PC5	26 e
PC6	53 a
PC7	24 e
PC8	48 ab
PC9	30 de
PC10	12 f
PC11	16 ef
PC12	34 d
PC13	25 e
PC14	42 bc
PC15	44 bc
PC16	50 a
PC17	34 cd
PC18	35 cd
PC19	30 de
PC20	32 cd
Tanpa <i>P. fluorescens</i> (Kontrol)	9 f

Keterangan : Angka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata menurut uji DMRT 5%.

Rizobakteri *P. fluorescens* efektif meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan bibit cengkeh dapat dihubungkan dengan potensi rizobakteri *P. fluorescens* sebagai : 1) bakteri pelarut fosfat dapat untuk sekresi akar dapat mempengaruhi kolonisasi dan berkembang akar, 2) inokulan pengikat dan penambahan suplai N dan P untuk tanaman untuk penambahan substansi promosi pertumbuhan, 3) Interaksi antara rizobakteri dan mikroorganisme lain dapat menyebabkan pengaruh untuk memanfaatkan dan sumber P (Muhammad, 2014; Amutharaj et al., 2013 dalam Elekhtyar, 2015), 4) Sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dengan memproduksi hormon tumbuh seperti IAA, giberelin, sitokinin, dan etilen dalam lingkungan akar (Kaufman et al., 1995 dalam Sutariati dan Safuan, 2012; Tenuta, 2006 dalam Ibrahim et al., 2014).

Berdasarkan hal tersebut isolat *P. fluorescens* yang diuji dalam penelitian ini mampu memacu pertumbuhan tinggi bibit dan panjang akar bibit. Peranan fitohormon yang dihasilkan oleh rizobakteri memiliki fungsi yang berbeda satu dengan yang lainnya, sehingga mampu mempengaruhi mekanisme yang terjadi dalam tanaman. Hormon-hormon yang terlibat dalam mekanisme ini tidak hanya terdiri dari satu jenis, karena pertumbuhan dan perkembangan tanaman dikendalikan oleh beberapa hormon (Bharathi *et al.*, 2004 dalam Gholami *et al.*, 2009).

Variasi diantara rizobakteri berbeda species dan strain, kondisi kultur, tingkat pertumbuhan dan ketersediaan substrat dilaporkan mempengaruhi produksi IAA (Mirza *et al.* 2001 dalam Sutariati dan Safuan 2012). Keterlibatan mekanisme untuk peningkatan pertumbuhan bibit terkait dengan kemampuan rizobakteri untuk mengkolonisasi dan berkembang biak pada rizosfer dan akar (Sutariati dan Safuan, 2012).

Ini dapat dihubungkan dengan peningkatan sintesa hormon tumbuh seperti gibberellin, yang akan memantik aktivitas enzim spesifik yang promosi di awal perkecambahan. Disamping itu peningkatan pertumbuhan bibit akan terjadi dengan sintesa lebih baik auxin (Bharathi *et al.*, 2004 dalam Gholami *et al.*, 2009). Kecendrungan peningkatan pertumbuhan bibit cengkeh ada isolat rizobakteri strain *P. fluorescens* yang mampu melarutkan fosfat lebih baik dibandingkan isolat rizobakteri yang tidak mampu melarutkan fosfat (Syamsudin, 2010 dalam Ibrahim *et al.*, 2014).

Tingginya pertumbuhan tanaman dapat dihubungkan dengan sebagai akibat adanya kemampuan yang tinggi strain agens hayati rizobakteri *P. fluorescens* dalam pengaruh tidak langsung dari aktivitas *P. fluorescens* tersebut menghasilkan hormon tumbuh yang dapat merangsang pertumbuhan akar (Campbell, 1989).

Isolat *P. fluorescens* sebagai pemacu pertumbuhan tanaman berkaitan erat dengan kandungan hormon tumbuh yang dihasilkan oleh rizobakteri. Hormon-hormon tumbuh tersebut seperti auxin, IAA, giberelin, sitokinin dan etilin, dan juga memfiksasi N dan melarutkan P (fosfat), dan penggunaan senyawa organik dan anorganik yang berinteraksi dengan tanaman dan berasosiasi dalam rizosfer (Wahdah, 2015). Strain *P. fluorescens* dan *P. putida* yang diaplikasikan pada benih kentang dan lobak dapat meningkatkan hasil kentang 5-33% dan lobak 60-144% (Weller, 1988), dan *P. fluorescens* yang dipalikasikan pada tanaman tembakau dapat meningkatkan produksi tembakau 88-92% (Arwiyanto, 1998).

Promosi pertumbuhan bibit oleh rizobakteri *P. fluorescens* dihubungkan terhadap perkecambahan bulu akar, perubahan bentuk bulu akar dan percabangan, peningkatan pada munculnya bibit, biomass, peningkatan hormon tumbuh indigenus, mineral dan pengambilan udara (Palide dan Kishore, 2006; Ashrafuzzaman *et al.*, 2009 dalam Elekhtyar, 2015).

KESIMPULAN

Bibit cengkeh yang diperlakukan dengan rizobakteri *P. fluorescens* dapat meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh. Bibit cengkeh yang diperlakukan *P. fluorescens* PC6; PC8; PC14; PC15 dan PC16 menunjukkan kemampuan meningkatkan pertumbuhan bibit cengkeh lebih baik dibandingkan dengan *P. fluorescens* lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Arwiyanto T. 1998. Pengendalian Secara Hayati Penyakit Layu Bakteri Pada Tembakau. Laporan Riset Unggulan Terpadu IV (1996-1998). Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi Dewan Riset Nasional. 58p.
- Campbell R. 1989. Biological Control of Microbial Plant Pathogens. Cambridge University Press. Cambridge. 218 p.
- Elekhtyar NM. 2015. Efficiency of *Pseudomonas fluorescens* as Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) for the Enhancement of seedling vigor, Nitrogen up take, Yield and its Attributes of Rice

- (*Oryza sativa* L). International Journal of Scientific Research in Agricultural Sciences 2 (Proceedings): 057-067.
- Gholami A, S Shahsavani and S Nezarat. 2009. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize. International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering. 3(1): 9-14.
- Ibrahim A, S Ilyas and D Manohara. 2014. Perlakuan benih cabai (*Capsicum annum* L) dengan rizobakteri untuk mengendalikan *Phytophthora capsici*, meningkatkan vigor benih dan pertumbuhan tanaman. Bul. Agrohorti. 2(1): 22-30.
- Nasrun, Christanti, T Arwiyanto dan I Mariska. 2007. Karakteristik fisiologis *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam. Jurnal Penelitian Tanaman Industri (*Industrial Crops Research Journal*). Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Bogor. Volume 13 No.2; 43-48.
- Nasrun, S Christanti, T Arwiyanto dan I Mariska. 2004. Seleksi antagonistik *Pseudomonas fluorescen* terhadap *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu bakteri nilam secara *in vitro*. Jurnal Stigma. XII (2): 228-231.
- Sutariati GAK dan LO Safuan. 2012. Perlakuan benih dengan rizobakteri meningkatkan mutu benih dan hasil cabai (*Capsicum annum* L). J.Agron. Indonesia. 40(2): 125-131
- Sutariati GAK, Widodo, Sudarsono dan S Ilyas. 2006. Pengaruh perlakuan rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman terhadap viabilitas benih serta pertumbuhan bibit tanaman cabai. Bul.Agron. 54 (1): 40-54
- Wahdah SR. 2015. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dalam pengendalian penyakit tungro pada padi lokal Kalimantan Selatan. PROS SEMNAS MASY BIODIV INDON 1(6): 1448-1456.
- Weller DM. 1988. Biological Control of Soilborne plant pathogens in the Rhizosphere with Bacteria. Ann.Rev,Phytopathol.26:397-407.