

UJI AKTIVITAS BAKTERI PENAMBAT NITROGEN DAN PENGHASIL IAA DARI RIZOSFER TANAMAN KEDELAI (*Glycine max L.*)

Activity Test of Nitrogen Stocking-Bacteria and IAA Producing from Soybean Plants Rhizosphere (Glycine max L.)

Saida¹, Puspitasari², dan Aminah¹

¹Dosen Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muslim Indonesia

²Alumni Program Studi Agroteknologi Fakultas Pertanian Universitas Muslim Indonesia

e-mail: saida.saida@umi.ac.id aminah.muchdar@umi.ac.id

ABSTRACT

This study aims to examine the activities of nitrogen-fixing bacteria and Indole Acetic Acid (IAA)-producing bacteria from the soybean plant rhizosphere. This research was conducted at the Laboratory of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Universitas Muslim Indonesia (UMI), Makassar. Analysis of the sample N fastening test was carried out at the Laboratory of Soil and Conservation, Faculty of Agriculture, UMI, Makassar. Analysis of the IAA test sample was carried out at the Laboratory of Plant Pests and Diseases, Faculty of Agriculture, Hasanuddin University, Makassar, from May to July 2021. This study used a Completely Randomized Design (CRD) method. The isolates tested were isolates obtained from soybean roots, namely isolate 2.2, isolate 2.3 and isolate 3.2. Of the three isolates, each was replicated three times, so that there were nine replications. The obtained data was then analyzed using the Anova test. The results showed that isolate 3.2 had a higher nitrogen fixation ability, which was 20.31% compared to isolate 2.2 and isolate 2.3. The density level of isolate 2,3 tended to be higher, with an absorbance of 0.43 and the ability to produce IAA at 6.61 ppm.

Keywords: Plant Rhizosphere; IAA; Nitrogen; Soybean Plants

PENDAHULUAN

Kedelai merupakan tanaman legum yang dapat menambat nitrogen secara mandiri, namun masih membutuhkan pupuk nitrogen pada awal fase pertumbuhannya. *Bradyrhizobium* adalah rhizobium yang dapat berperan sebagai agen pupuk hayati dengan bersimbiosis dengan akar kedelai. Penggunaan bakteri ini adalah solusi dalam mengurangi penggunaan pupuk anorganik, selain itu memberikan beberapa keuntungan antara lain : meningkatkan ketersediaan unsur hara, tidak memiliki efek samping yang membahayakan, efisien dalam penggunaannya karena tidak mahal serta ramah lingkungan (Novriani, 2011).

Data dari Badan Pusat Statistik Sulawesi Selatan menunjukkan bahwa pada tahun 2015 luas panen tanaman kedelai 38.036 hektar dengan produksi kedelai sebesar 67.192 ton dan produktivitas perhektar yaitu 1,77 ton perhektar. Tahun 2014 luas panen tanaman kedelai 36.390 hektar dengan produksi kedelai

54.606 ton dan produktivitas yaitu 1,50 ton perhektar.

Salah satu cara budidaya yang baik bagi tumbuhan ialah dengan menggunakan mikroba yang mampu menghasilkan metabolit sekunder sebagai faktor pendukung pertumbuhan. Rizosfer adalah mikroba yang ada disekitar akar tanaman yang secara langsung dipengaruhi oleh mikroba tanah dan eksudasi perakaran tanaman (Sukmadi, 2012). Mikroba rizosfer seperti *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp. dan *Enterobacter* sp., dapat memberikan efek menguntungkan bagi pertumbuhan tanaman karena kemampuannya menghasilkan hormon IAA (Sukmadi, 2012).

IAA endogen merupakan hormon pertumbuhan yang dihasilkan oleh tanaman, sedangkan IAA eksogen merupakan hormon yang diproduksi oleh bakteri yang mampu mempercepat pertumbuhan tanaman dengan memacu proses differensiasi pada 2 akar dalam membentuk rambut akar. Konsentrasi IAA rendah dapat menstimulasi pemanjangan akar utama, sedangkan konsentrasi tinggi

dapat menstimulasi pembentukan akar lateral dan akar adventif. Pertumbuhan akar lateral dan akar adventif berperan pada tanaman yang masih muda dalam hal menyerap unsur hara (Astriani, 2015).

Sumber hormon IAA yang alami tidak hanya dihasilkan oleh tumbuhan saja tetapi juga dihasilkan oleh rhizobakteri. Pemakaian supernatan dari kultur rhizobakteri yang mengandung IAA mampu memberikan efek fisiologis pada suatu tanaman. Hormon tumbuh yang dihasilkan oleh mikroorganisme rhizosfer mampu meningkatkan perkecambahan biji, pembentukan rambut akar serta meningkatkan transpor ion sehingga pengangkutan air oleh akar meningkat (Pamungkas et al., 2009).

Pemanfaatan kelompok PGPR yang dapat menambat nitrogen dan penghasil IAA diharapkan mampu mempengaruhi pertumbuhan kedelai. Berdasarkan uraian tersebut maka dalam upaya memenuhi meningkatkan produktivitas tanaman kedelai yang akan memenuhi kebutuhan masyarakat maka perlu dilakukan penelitian tentang uji aktivitas bakteri penambat nitrogen dan penghasil auksin IAA dari rizosfer tanaman kedelai.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Muslim Indonesia, Makassar. Analisis sampel uji Penambat N dilaksanakan di Laboratorium Tanah dan Konservasi, Fakultas Pertanian, Universitas Muslim Indonesia, Makassar dan Analisis sampel uji Auksin IAA dilaksanakan di Laboratorium Hama dan Penyakit Tanaman, Fakultas Pertanian, Universitas Hasanuddin, Makassar. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Juli sampai September 2021.

Penelitian ini dirancang dengan menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL). Perlakuan yang diujicobakan yaitu jenis isolat yang diisolasi dari akar

tanaman kedelai (koleksi Laboratorium Tanah dan Konservasi Tanah) yaitu isolat 2.2 (IB-1), isolat 2.3 (IB-2) dan isolat 3.2 (IB-3). Dari ketiga isolat tersebut dilakukan 3 kali ulangan setiap isolat sehingga ada 9 ulangan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan uji Anova.

Adapun Isolat yang digunakan pada penelitian ini yaitu isolat yang dikoleksi di Laboratorium Konservasi Tanah dan Lingkungan Fakultas Pertanian, Universitas Muslim Indonesia yang berhasil diisolasi oleh Adriantama (2021). Isolat bakteri ini diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai sebanyak 23 isolat yang berpotensi dalam pelarutan P. Maka dalam penelitian ini untuk melakukan uji aktivitas bakteri penambat nitrogen dan penghasil auksin IAA menggunakan 3 isolat yang unggul dari 23 isolat yang berpotensi dalam pelarutan P. Dari isolat yang unggul yaitu isolat dengan kode Iso 2-2 (IB-1), iso 2-3 (IB-2) dan iso 3-2 (IB-3).

Uji Kemampuan Bakteri dalam Menambat Nitrogen

Isolat yang telah dimurnikan diinokulasikan pada media NA semi padat. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 2 hari dan diamati pelikel yang terbentuk. Setelah itu dilakukan uji lanjut dengan cara membuat media baru lalu menggosokkan untuk mendapatkan isolat tunggal.

Sebelum media di tumbuhkan mikroba penambat nitrogen terlebih dahulu melakukan analisis kadar nitrogen. Setelah itu Isolat bakteri ditumbuhkan pada medium JNFB semi padat dan diinkubasi selama 10 hari pada suhu ruang. Setelah ada perubahan warna menganalisis kembali kandungan N pada media, jumlah N yang di fiksasi oleh bakteri adalah selisih antara kadar N dalam media setelah ditumbuhkan bakteri dan sebelum ditumbuhkan bakteri.

Uji Kemampuan Bakteri Menghasilkan IAA

Pengujian kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA diuji menggunakan media nutrisi *nutrien broth* dan *reagen salkowski*. Biakan isolat bakteri dikulturkan pada media NB yang dilengkapi dengan *L-tryptophan* ($0,1 \text{ g l}^{-1}$) pada suhu 28°C dalam kondisi gelap selama 5 hari, dan supernatan diambil setelah sentrifugasi. Kemudian 4 ml supernatan ditambahkan ke dalam 1 ml *reagen salkowski* ($12 \text{ g l}^{-1} \text{ FeCl}_3$ dalam $429 \text{ l}^{-1} \text{ ml H}_2\text{SO}_4$). Campuran disimpan selama 24 jam pada suhu 28°C pada kondisi gelap dan absorbansi diukur

pada 535 nm pada spektrofotometer UV-VIS. Perubahan warna pink dalam tabung reaksi menunjukkan produksi IAA.

HASIL DAN PEMBAHASAN Kemampuan Bakteri dari Rizosfer Tanaman Kedelai dalam Menambat N

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa jumlah N yang di fiksasi oleh tiga isolat bakteri rizosfer tanaman kedelai berpengaruh sangat nyata. Adapun rata-rata jumlah nitrogen yang difiksasi oleh ke tiga bakteri tersebut disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata jumlah N yang Difiksasi Oleh Bakteri

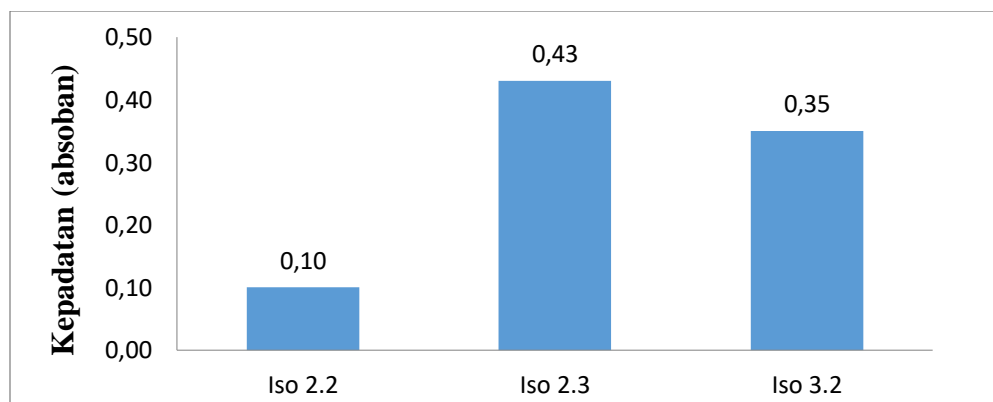
Perlakuan	Rata-Rata N yang Difiksasi (%)	NP BNT 5%
IB-1 (Iso 2.2)	16.67 ^b	
IB-2 (Iso 2.3)	17.33 ^b	0.80
IB-3 (Iso 3.2)	20.31 ^a	

Keterangan : Angka yang diikuti huruf yang tidak sama berbeda sangat nyata menurut uji BNT 5%

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa kemampuan memfiksasi nitrogen yang lebih tinggi yaitu IB-3 (isolat 3.2) dengan rata-rata 20,31% berbeda nyata dengan IB-1 (isolat 2.2) dan IB-2 (isolat 2.3). Dan isolat yang memfiksasi nitrogen paling rendah yaitu IB-1 (isolat 2.2) dengan rata-rata 16,67%.

Kepadatan Bakteri Penghasil IAA

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kepadatan bakteri penghasil IAA antara ketiga isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai tidak berpengaruh nyata terhadap kepadatan bakteri yang ditumbuhkan. Adapun rata-rata kepadatan bakteri penghasil IAA oleh ketiga bakteri tersebut disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Rata-Rata Kepadatan Bakteri Penghasil IAA

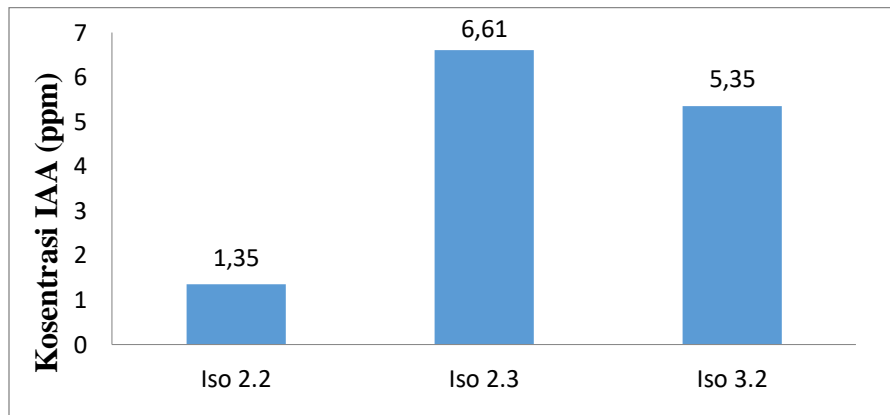
Berdasarkan Gambar 1, menunjukkan bahwa IB-2 (isolat 2.3) merupakan isolat yang

memiliki rata-rata kepadatan bakteri penghasil IAA cenderung lebih tinggi yaitu 0,43

absorban dan IB-3 (isolat 3.2) adalah isolat yang memiliki rata-rata kepadatan bakteri penghasil IAA yaitu 0,35 absorban. Sedangkan IB-1 (isolat 2.2) merupakan isolat yang memiliki rata-rata kepadatan bakteri penghasil IAA cenderung lebih rendah yaitu 0,10 absorban.

Konsentrasi IAA yang Dihasilkan

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa kemampuan bakteri menghasilkan auksin antara ketiga isolat bakteri yang diisolasi dari rizosfer tanaman kedelai tidak berpengaruh nyata terhadap kemampuan bakteri menghasilkan auksin yang ditumbuhkan. Adapun rata-rata kemampuan bakteri menghasilkan auksin oleh ketiga bakteri disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2 Rata-Rata Kemampuan Bakteri Menghasilkan IAA.

Berdasarkan Gambar 2 menunjukkan bahwa IB-2 (isolat 2.3) merupakan isolat yang memiliki rata-rata kemampuan bakteri menghasilkan auksin cenderung lebih tinggi yaitu 6,61 ppm dan IB-3 (isolat 3.2) adalah isolat yang memiliki nilai rata-rata konsentrasi IAA yaitu 5.35 ppm. Sedangkan IB-1 (isolat 2.2) merupakan isolat yang memiliki rata-rata kemampuan bakteri menghasilkan auksin cenderung lebih rendah yaitu 1,35 ppm.

PEMBAHASAN

Kemampuan Bakteri dari Rizosfer Tanaman Kedelai dalam Menambat N

Berdasarkan hasil yang diperoleh dalam menyeleksi bakteri penambat nitrogen yang telah dilakukan dengan metode rancangan acak kelompok didapatkan bahwa IB-3 (isolat 3.2) memiliki kemampuan paling tinggi dalam menambat nitrogen sebesar 20,31%, diikuti

oleh IB-2 (isolat 2.3) sebesar 17,33% dan IB-1 (isolat 2.2) sebesar 16,67%. Hasil penelitian Firrani (2011), menyatakan bahwa kemampuan isolat bakteri tertinggi dalam menambat nitrogen hanya menghasilkan 3.13 ppm yaitu bakteri yang diisolasi dari akar kelapa sawit. Hal tersebut menunjukkan bahwa isolat penambat nitrogen yang diisolasi dari rizosfer kedelai memiliki kemampuan penambat nitrogen yang lebih baik.

Hasil pengujian secara kuantitatif yang dilakukan dengan metode pengukuran kemampuan bakteri dalam menambat N diukur berdasarkan kemampuan enzim nitrogenase dalam mereduksi asetilen (C_2H_2) menjadi etilen (C_2H_4) (Firrani, 2011). Hal ini menunjukkan bahwa IB-3 (isolat 3.2) memiliki kemampuan yang paling potensial sebesar 20,31%.

IB-1 (isolat 2.2) merupakan isolat yang memiliki rata-rata kemampuan memfiksasi

nitrogen cenderung lebih rendah yaitu 16,67%. Hal ini dipengaruhi oleh faktor kandungan nitrogen yang lebih rendah dalam memfiksasi nitrogen. Menurut Hindersah & Simarmata (2004) mengatakan bahwa fiksasi nitrogen biologis sebagai bagian dari input nitrogen untuk mendukung pertumbuhan tanaman telah menurun akibat intensifikasi pemupukan anorganik.

Kepadatan Bakteri Penghasil IAA

Kepadatan bakteri dapat diukur dengan menggunakan spektrofotometer berdasarkan absorbansinya dengan panjang gelombang 535 nm. Kerja spektrofotometer yakni dengan cara melewatkan cahaya dengan panjang gelombang tertentu sesuai jenis atom pada suatu obyek kaca yang disebut kuvet. Sebagian cahaya akan diserap dan sisanya akan dilewatkan. Semakin kental larutan dalam kuvet maka semakin banyak cahaya yang terserap dan pembacaannya dimonitor semakin tinggi nilai absorbannya. Keuntungan utama metode spektrofotometer adalah bahwa metode ini memberikan cara sederhana untuk menetapkan kuantitas zat yang sangat kecil. Selain itu, hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka yang terbaca langsung dicatat oleh detector dan tercetak dalam bentuk angka digital ataupun grafik yang sudah diregresikan (Seniati, dkk.,2019)

Demikian halnya dengan bakteri, kepadatan populasi akan terbaca berdasarkan kekeruhannya, Mikroba dalam suatu bahan cair dapat dideteksi berdasarkan kekeruhannya. Pertumbuhan sel bakteri di dalam suatu medium cair akan meningkatkan kekeruhan media, yang akan mempengaruhi jumlah sinar yang dapat ditransmisikan menembus medium (Widi, 2012)

Hasil penelitian absorbansi dari ketiga isolat terdeteksi dengan baik, interval kenaikan absorbansi juga tidak berbeda nyata yakni bahwa absorbansi dari IB-1 (isolat 2.2) yaitu 0,10 absorbansi yang paling rendah. Kemudian IB-2 (isolat 2.3) nilai absorbansi 0,43 yang

paling tinggi dan IB-3 (isolat 3.2) yaitu 0,32 absorbansi. Semakin banyak jumlah bakteri maka warnanya semakin keruh atau pekat maka semakin banyak cahaya yang diserap dan absorbansinya semakin tinggi. Dimana IB-2 (isolat 2.3) menunjukkan pertumbuhannya yang lebih tinggi atau kepadatannya lebih tinggi dibandingkan dari kedua isolat lainnya.

Konsentrasi IAA yang Dihasilkan

Uji kuantitatif terhadap ketiga isolat bakteri dengan menggunakan spektrofotometer, menunjukkan bahwa konsentrasi IAA bervariasi dari masing-masing isolat. Pada IB-2 (isolat 2.3) menghasilkan konsentrasi IAA tertinggi sebanyak 6,61 ppm, diikuti IB-3 (isolat 3.2) menghasilkan IAA sebanyak 5,35 ppm dan IB-1 (isolat 2.2) menghasilkan IAA terendah yaitu 1,35 ppm. Oleh karena itu IB-2 (isolat 2.3) menghasilkan isolat yang dianggap paling potensial dalam menghasilkan IAA dibandingkan kedua isolat lainnya.

Variasi konsentrasi hormon IAA yang dihasilkan oleh masing-masing isolat diduga karena perbedaan kemampuan kecepatan bakteri dalam mensintesis triptofan menjadi IAA. Biosintesis IAA oleh mikroba dapat ditingkatkan dengan penambahan triptofan sebagai *precursor*. Menurut Bric (1991), bakteri yang menghasilkan IAA dapat ditumbuhkan di dalam media pertumbuhan yang mengandung triptofan yang penting dalam pembentukan IAA. IAA atau Auksin disintesis sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri suboptimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan.

Bakteri IB-1 (isolat 2.2) menghasilkan IAA yang rendah hal ini diduga karena bakteri menggunakan nutrisi yang terkandung di dalam media hanya untuk pertumbuhan saja, tidak digunakan untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder yaitu IAA. Menurut Lestari (2007), semakin lama umur bakteri, produksi

IAA cenderung menurun. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh turunnya kandungan nutrisi sedangkan di lain pihak IAA yang dihasilkan dikonsumsi kembali untuk pertumbuhan. Perbedaan kemampuan bakteri dalam menggunakan nutrisi yang terdapat di dalam media untuk mendukung laju metabolismenya akan mempengaruhi laju pertumbuhan bakteri tersebut. Selain pengaruh nutrisi, juga dipengaruhi jenis mikroba dan keadaan mikroba

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil yang diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Isolat 3.2 mempunyai kemampuan memfiksasi nitrogen yang lebih tinggi yaitu 20,31% dibandingkan dengan isolat 2.2 dan isolat 2.3.
2. Isolat 2.3 cenderung lebih tinggi tingkat kepadatannya dengan nilai absorban sebesar 0,43 dan kemampuan menghasilkan IAA yaitu 6,61 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Yayasan Wakaf UMI dan Lembaga Penelitian dan Pengembangan Sumberdaya (LP2S) UMI atas hibah dana Penelitian Unggulan Fakultas T.A. 2021.

DAFTAR PUSTAKA

Astriani, M. 2015. *Seleksi Bakteri Penghasil Indole-3-Acetic Acid (IAA) dan Pengujian Pada Bibit Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Thesis. Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor. Bogor.

Bric, J.M., Richard, M.B., & Sara, E.S. 1991. Rapid In Situ Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose

Membrane. *Appl Environ Microbiol.* 57: 535-538.

Firrani, M. 2011. *Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Diazotrof yang Memfiksasi Nitrogen Bebas pada Akar Kelapa Sawit (Elaeis guineensis Jacq.)*. Skripsi. Medan. Universitas Sumatera Utara.

Hindersah, R., & T. Simarmata. 2004. *Potensi Rhizobacteri Azotobacter Dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah*. *J Natura Indones.* 5:127-133.

Lestari P, DN Susilowati and EI Riyanti. 2007. *Pengaruh hormon asam indol asetat yang dihasilkan Azospirillum sp. terhadap perkembangan akar padi*. *Jurnal AgroBio-gen* 2, 66-72.

Novriani. 2011. *Pernanan Rhizobium dalam Meningkatkan Ketersediaan Nitrogen bagi Tanaman Kedelai*. *Agronobis.* Vol. 3, No. 5.

Pamungkas, F. T., Sri, D1 & Raharjo, B. 2009. *Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman dalam Supernatan Kultur Bacillus sp.2ducc-br-kl.3 Terhadap Pertumbuhan Stek Horizontal Batang Jarak Pagar (Jatropha curcas L.)*. Artikel Penelitian. Universitas Diponegoro.

Seniati, Marbiah dan Irham A. 2019. *Pengukuran Kepadatan Bakteri Vibrio Harveyi secara Cepat dengan Menggunakan Spectrofotometer*. *Jurnal Agrokompleks* 19 (2) : 12-19.

Sukmadi, R. B. 2012. *Aktivitas Fitohormon Indole-3-Acetic-Acid (IAA) dari Beberapa Isolat Bakteri Rhizosfer dan Endofit*. *Jurnal Sains dan Teknologi Indonesia*, 14 (3), 221-227.

Widi, I.K. 2012. *Perhitungan Bakteri*. Program Studi Budidaya Perairan Fakultas Pertanian Universitas Lampung.