

Karakterisasi Potensi dan Identifikasi Rizobakteri Indigenus Lahan Ultisol Untuk Mendukung Pertumbuhan Varietas Padi Gogo Unggulan

Potential Characterization and Identification of Indigenous Rhizobacteria Species of Ultisol Soil to Support the Growth of Several Superior Upland Rice Varieties

Sapto Nugroho Hadi^{1*}, Ida Widiyawati¹, Dan Syaeful Anwar¹

¹Department of Agrotechnology, Faculty of Agriculture, Universitas Jenderal Soedirman

*E-mail : sapto.hadi@unsoed.ac.id

ABSTRACT

*TG4 and SR2 were isolates of indigenous bacteria from cassava roots from Banyumas Regency, Central Java. Both are local isolates from marginal lands that can be developed as biofertilizers. This study aimed to determine the potential characteristics of bacterial isolates TG4 and SR2 in supporting the growth of superior upland rice and determining species identity based on the molecular analysis of 16S rRNA. Bacterial isolates TG4 and SR2 were determined for their potency of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) by fixing N₂, dissolving phosphate, and producing Indole Acetic acid (IAA). Bioassays were carried out on TG4 and SR2 isolates by application of bacterial isolates (B0 = control, B1 = TG4, B2 = isolates SR2, B3 = isolates TG4 and SR2) on superior upland rice (V1 = INPAGO UNSOED 1, V2 = UNSOED PARIMAS, V3 = INPAGO 8) in sterile ultisol soil. The F test was used for bioassay data analysis, and if there was a significant difference, it was further tested with Duncan's Multiple Range Test (DMRT) with an error rate of 5%. The identity of bacterial species TG4 and SR2 was obtained by analyzing 16S rRNA sequences and genetic relationships through phylogenetic trees. The results showed that the isolates of TG4 were phosphate solubilizing bacteria and producers of IAA, while the isolates of SR2 were nitrogen fixing, phosphate solubilizing, and IAA producers. The application of bacterial isolates TG4 and SR2 significantly affected root length wet and dry weight of upland rice plants, with the highest value obtained from using a consortium of TG4 and SR2 bacteria. Bacterial isolates TG4 were identified as *Bacillus albus*, while SR2 as *B. paramycoides*. Bacterial isolates TG4 and SR2 can be used as biofertilizers to support superior upland rice growth.*

Keywords: biofertilizer, *B. paramycoides*, *B. albus*, upland rice

Disubmit : 07 Juni 2021, **Diterima:** 1 September 2021, **Disetujui :** 17 Desember 2021

PENDAHULUAN

Sejumlah isolat bakteri rizosfer tanaman singkong dari lahan kering-masam di Desa Srowot dan Tanggeran, Kabupaten Banyumas, Provinsi Jawa Tengah telah berhasil didapatkan (Hadi et al. 2018). Dua isolat bakteri dominan diberi kode TG4 dan SR2. Berdasarkan hasil pengujian, kedua isolat merupakan bakteri toleran residu pestisida berbahan aktif buprofezin. Buprofezin umumnya digunakan untuk mengendalikan hama wereng cokelat yang menyerang tanaman padi. Isolat TG4 dan SR2 diduga kuat memiliki kemampuan menurunkan residu pestisida buprofezin dengan cara menggunakan sebagai sumber nutrisi tambahan bagi pertumbuhannya (Hadi et al. 2018). Bakteri yang resisten dan dapat



Lisensi

Ciptaan disebarluaskan di bawah Lisensi Creative Commons Atribusi-BerbagiSerupa 4.0 Internasional.

menggunakan pestisida sebagai sumber nutrisinya sangat berpotensi digunakan dalam usaha mengurangi cemaran residu pestisida sintetik di lahan pertanian sehingga tingkat kesuburan tanah dapat kembali ditingkatkan (Javaid et al. 2016). Hal ini merupakan peran penting bakteri tanah di dalam usaha untuk menyiapkan kondisi lingkungan pertanian yang sehat untuk pertumbuhan optimum bagi tanaman budidaya.

Bakteri rizosfer tanaman juga dapat memiliki peran di dalam mendukung pertumbuhan tanaman budidaya. Bakteri kelompok ini memiliki karakteristik PGPR. PGPR merupakan sekelompok bakteri menguntungkan yang berguna untuk merangsang pertumbuhan tanaman dan meningkatkan hasil panen (Saharan & Nehra 2011). Bakteri ini secara aktif mengkolonisasi daerah perakaran tanaman (Rahni 2012). Tanaman menarik PGPR di daerah rizosfer dengan cara mengeluarkan eksudat akar yang berperan sebagai sumber nutrisi bagi bakteri. Adanya eksudat akar menyebabkan populasi PGPR di daerah rizosfer jauh lebih tinggi daripada di tanah biasa (Lintang et al. 2018). Sementara itu, PGPR mengeluarkan metabolit yang dapat digunakan oleh tanaman untuk pertumbuhan dan perkembangannya.

PGPR memiliki peran secara langsung dalam mendukung pertumbuhan tanaman melalui penyediaan sumber hara bagi tanaman seperti nitrogen (dikenal dengan istilah bakteri penambat nitrogen) (Nurmas et al. 2014), fosfor (bakteri pelarut fosfat) (Sharon et al. 2016), dan hormon tumbuh (bakteri penghasil Indole Acetic acid/IAA) (Aly et al. 2012). PGPR juga dapat memiliki peran tidak langsung bagi tanaman melalui produksi senyawa siderofor atau antibiotik yang dapat menghambat pertumbuhan dan perkembangan patogen tanaman budidaya (Kannahi & Senbagam 2014). Oleh karena itu, adalah sangat penting untuk mengetahui karakteristik PGPR bakteri lokal untuk melihat potensinya dalam mendukung pertumbuhan optimum tanaman budidaya khususnya di lahan-lahan sub-optimal seperti lahan kering-masam yang memiliki karakteristik umum berupa terbatasnya sumber nutrisi di dalam tanah.

Bakteri yang memiliki karakteristik PGPR juga dapat diketahui peran dalam mendukung pertumbuhan tanaman melalui uji hayati (bioassay). Uji hayati dilakukan dengan merendam benih tanaman dalam isolat bakteri dengan kerapatan tertentu (Muttiara et al. 2017). Benih yang tumbuh menjadi bibit diamati dalam durasi 14 hari (Asova et al. 2018). Respon tanaman dapat menggambarkan karakteristik PGPR isolat bakteri yang diaplikasikan. Uji hayati dijadikan indikator awal untuk mengetahui potensi bakteri yang dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi biofertilizer atau pupuk hayati.

Kegiatan untuk mengetahui potensi PGPR bakteri indigenus tanah ultisol bersumber dari perakaran tanaman singkong asal Kabupaten Banyumas belum pernah dilakukan. Padahal bakteri lokal yang memiliki potensi PGPR dapat digunakan untuk menguatkan sistem budidaya tanaman padi di lahan-lahan marginal yang miskin hara terkhusus di Kabupaten Banyumas yang menjadi salah satu sentra produksi beras di Jawa Tengah. Bakteri potensi PGPR juga dapat digunakan sebagai upaya pengembangan sistem budidaya pertanian berbasis lingkungan dengan potensinya mengurangi kebutuhan hara bersumber pupuk kimia sintetik.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik potensi bakteri indigenus perakaran singkong dari tanah ultisol dalam mendukung pertumbuhan beberapa varietas padi gogo unggulan dan untuk mengetahui identitas bakteri target hingga level spesies berbasis analisis molekuler 16S rRNA.

METODE PENELITIAN

Karakteristik PGPR. Karakteristik PGPR isolat bakteri TG4 dan SR2 diketahui dengan menguji kemampuan isolat bakteri dalam fiksasi nitrogen (N₂) atmosfer, melarutkan fosfat, dan produksi IAA. Untuk karakteristik fiksasi nitrogen, isolat bakteri TG4 dan SR2 secara terpisah ditumbuhkan dalam medium Glucose Nitrogen Free Medium (NGNFM) (HIMEDIA) steril selama 72 jam pada 37°C. Kontrol NGNFM tanpa inokulasi isolat bakteri digunakan sebagai pembanding. Sebanyak 1 ml NGNFM yang telah diinokulasi dan kontrol NGNFM dari pengujian sebelumnya dipindahkan ke medium NA steril (Merck) dan diinkubasi 72 jam pada suhu 37°C. Adanya pertumbuhan isolat bakteri di medium NA dan tidak adanya pertumbuhan

koloni bakteri di medium NA kontrol menandakan isolat termasuk bakteri penambat nitrogen. Untuk karakteristik pelarutan fosfat, isolat diinokulasi titik pada bagian tengah medium Pikovskayas (HIMEDIA). Sampel diinkubasi selama 24 jam hingga 7 hari pada suhu 37°C. Adanya zona bening di sekitar isolat menunjukkan kemampuan isolat dalam melerutkan fosfat (Karpagam & Nagalakshmi 2014). Untuk pengujian kemampuan produksi IAA, isolat ditumbuhkan dalam media Nutrient Broth (NB) steril (Merck) yang mengandung L-tryptophan (1000 ppm). Medium diinkubasi selama lima hari pada suhu 28°C dengan pengocokan pada 150 rpm. Kultur bakteri kemudian disentrifugasi pada 5000 rpm, 15 menit. Sekitar 1 ml fase cair, kemudian ditambahkan reagen Salkowski. Sampel diinkubasi dalam ruangan gelap selama 30 menit. Perubahan warna medium menjadi merah muda menunjukkan isolat memiliki kemampuan menghasilkan IAA (Vishwakarma et al. 2017).

Bioassay. Bioassay dilakukan melalui tiga tahapan, yaitu uji daya kecambah benih padi, uji kompatibilitas isolat dan uji kompatibilitas isolat isolat TG4 dan SR2, dan aplikasi isolat TG4 dan SR2 pada tanaman padi selama 14 hari di tanah ultisol steril. Uji daya berkecambah dilakukan dengan menginkubasi benih dalam kertas merang di cawang petri selama 7 hari. Daya kecambah diperoleh dengan menghitung jumlah benih yang berkecambah normal pada 5 dan 7 hari setelah tanam dibandingkan dengan jumlah total benih. Daya berkecambah benih dihitung dengan rumus (Tefa 2017).

$$DB (\%) = \frac{\Sigma KN \text{ Hitungan I} + \Sigma KN \text{ Hitung II}}{\Sigma \text{ benih yang ditanam}} \times 100$$

Keterangan:

KN = Kecambah Normal

Uji kompatibilitas isolate. Uji ini bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri TG4 dapat dikonsorsium bersama isolat SR2. Uji kompatibilitas isolat TG4 dan SR2 dilakukan dengan menumbuhkan isolat pada medium NA steril. Isolat bakteri TG4 digoreskan secara vertikal, sedangkan isolat SR2 digoreskan secara horizontal dalam medium NA yang sama sehingga bertemu pada satu titik. Isolat diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Kedua isolat bakteri dapat dikonsorsiumkan apabila tidak terbentuk zona hambat pada titik yang bersinggungan antara kedua isolat (Safitri et al. 2018).

Bioassay dilakukan dengan aplikasi isolat bakteri (B0 = kontrol, B1 = isolat TG4, B2 = isolat SR2, B3 = isolat konsorsium TG4 dan SR2) pada beberapa varietas padi gogo unggulan (V1 = INPAGO UNSOED 1, V2 = UNSOED Parimas, V3 = INPAGO 8). Benih padi direndam dua hari dengan isolat bakteri TG4 dan SR2 sesuai perlakuan. Kerapatan bakteri yang digunakan untuk perendaman benih padi 109 cfu/ml. Benih kemudian ditanam di dalam jar dengan media tanah ultisol steril. Pertumbuhan tanaman diamati selama 14 hari. Variabel yang diamati meliputi tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, bobot basah dan kering tanaman. Uji F digunakan untuk menganalisis data bioassay, dan jika ada perbedaan yang nyata, selanjutnya diuji dengan DMRT pada taraf 5%.

Identifikasi spesies bakteri dengan sekuensing 16S rRNA. Identifikasi spesies isolat bakteri TG4 dan SR2 ditentukan melalui metode sekuensing gen 16S rRNA menggunakan primer oligonukleotida 27F (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3'), 785F (5'-GGATTAGATAACCCTGGTA-3'), dan 1492R (5'-GGTACCTTGTACGACTT-3') (1st base). Analisis sekuensing dilakukan oleh PT Genetika Science Indonesia, Tangerang, Banten. Urutan sekuen 16S rRNA isolat bakteri TG4 dan SR2 dianalisis lebih lanjut menggunakan perangkat lunak Bioedit versi 7.0.5.3 (Hall 1999) dan MEGA (*Molecular Evolutionary Genetics Analysis*) versi X (Kumar et al. 2018) untuk mendapatkan identitas spesies isolat bakteri.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik PGPR. Karakteristik PGPR isolat bakteri TG4 dan SR2 disajikan pada Tabel 1. Hasil positif untuk ketiga karakteristik PGPR ditunjukkan oleh isolat bakteri SR2. Isolat bakteri SR2 diketahui sebagai bakteri penambat nitrogen (BPN), bakteri pelarut fosfat (BPF), dan produser IAA. Sementara itu, isolat bakteri TG4 menunjukkan hasil positif untuk dua karakteristik PGPR, yaitu pelarutan fosfat dan produksi IAA. Isolat bakteri TG4 diketahui sebagai BPF dan produser IAA.

Tabel 1. Karakteristik PGPR isolat TG4 dan SR2

Karakteristik PGPR	Isolat	
	TG4	SR2
Kemampuan menambat N2	-	+
Kemampuan melarutkan fosfat	+	+
Kemampuan memproduksi IAA	+	+

Catatan: + hasil positif, - hasil negatif

Kemampuan isolat bakteri menambat nitrogen atmosfer berdasarkan keberadaan koloni yang tumbuh pada medium Norris. Medium Norris tidak mengandung unsur nitrogen sehingga isolat bakteri yang dapat ditumbuhkan dalam media tersebut ialah isolat bakteri yang mampu menambat nitrogen bebas. Keberadaan senyawa sodium molibdat dalam medium Norris meningkatkan fiksasi nitrogen. BPN mengubah senyawa nitrogen atmosferik (N_2) menjadi bentuk yang dapat diserap tanaman (NH_4^+) dengan bantuan enzim nitrogenase (Soumare et al. 2020). Kemampuan isolat SR2 untuk menangkap nitrogen atmosfer sangat penting untuk tanaman. Bakteri kelompok BPN dapat mendukung ketersediaan unsur hara N bagi tanaman. Kebutuhan unsur N menjadi hal penting bagi tanaman budidaya. Kekurangan unsur N dapat menyebabkan pertumbuhan tanaman terganggu, tanaman kerdil, dan produksi tanaman menjadi rendah (Subardja et al. 2017). Kemampuan BPN diyakini dapat mengurangi penggunaan pupuk sintetis dalam sistem budidaya pertanian konvensional (Widiyawati et al. 2014). Aplikasi pupuk organik berbasis agen hidup bakteri PGPR mampu meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk sintetik (Ahadiyat & Ardiansyah 2020). Hal ini tentu sangat baik untuk mengurangi biaya produksi dalam budidaya pertanian.

Berdasarkan hasil uji pelarut fosfat pada isolat TG4 dan SR2, kedua isolat bakteri menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan koloni bakteri yang tumbuh dan membentuk zona bening. Indeks Kelarutan Fosfat (IKF) kedua koloni disajikan pada Tabel 2. Menurut Merry et al. (2013), BPF tumbuh dengan terjadi pembentukan zona bening yang bervariasi. Mekanisme pelarutan fosfat oleh bakteri adalah melalui produksi asam-asam organik (Larasati et al. 2018). Asam-asam organik tersebut akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe dan Al sehingga unsur fosfat (P) akan dibebaskan dan menjadi tersedia bagi tanaman (Roni et al. 2013). Kemampuan bakteri TG4 dan SR2 melarutkan fosfat sangat penting dalam mendukung ketersediaan unsur hara P bagi tanaman terkhusus yang dibudidayakan pada lahan-lahan marginal seperti lahan kering-masam (ultisol).

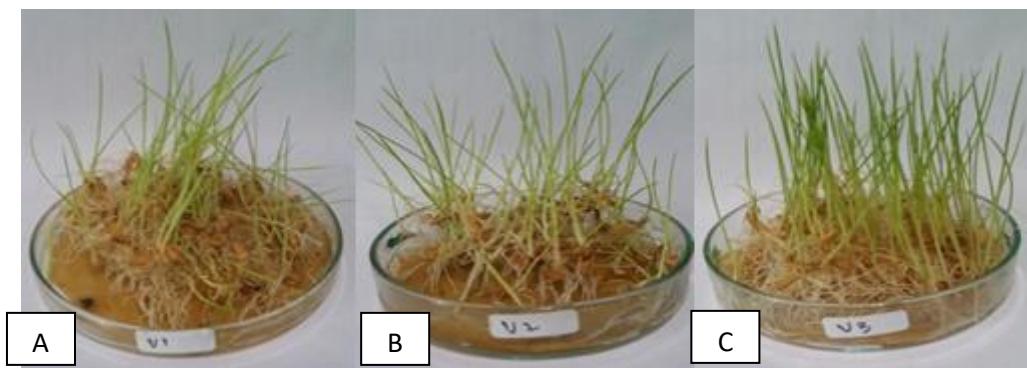
Tabel 2. Indeks Kelarutan Fosfat isolat bakteri

Kode Isolat	Diameter koloni (mm)	Zona bening (mm)	Indeks Kelarutan Fosfat
TG4	7	1,0	1,14
SR2	8	1,0	1,12

Isolat bakteri TG4 dan SR2 juga memiliki kemampuan memproduksi hormon IAA. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan warna medium NB dari kuning menjadi merah muda setelah ditambahkan reagen salkowski. Keberadaan asam amino L-triptofan di dalam medium NB mampu menstimulasi enzim triptofanase mengkatalisis pengubahan L-triptofan menjadi IAA yang akan membentuk kompleks warna

merah muda apabila direaksikan dengan reagen salkowski yang mengandung Fe (Astriani & Murtianingsih 2018). Semakin banyak kandungan L-triptofan dalam medium maka IAA yang dihasilkan bakteri akan meningkat. L-triptofan merupakan bahan dasar biosintesis IAA (Mohite 2013). IAA merupakan kelompok auksin yang mengendalikan banyak proses fisiologis penting termasuk pembesaran dan pembelahan sel, deferensiasi jaringan dan respon terhadap cahaya (Kholida & Zulaika 2015). Hormon IAA memegang peranan penting untuk pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Dewi et al. 2016). Kemampuan isolat bakteri TG4 dan SR2 memproduksi hormon IAA penting dalam mendukung pertumbuhan tanaman budidaya terkhusus yang dibudidayakan di lahan ultisol dengan kandungan P tersedia yang rendah.

Karakteristik Bioassay, Uji Daya Kecambah. Hasil uji daya kecambah benih padi disajikan pada Gambar 1.

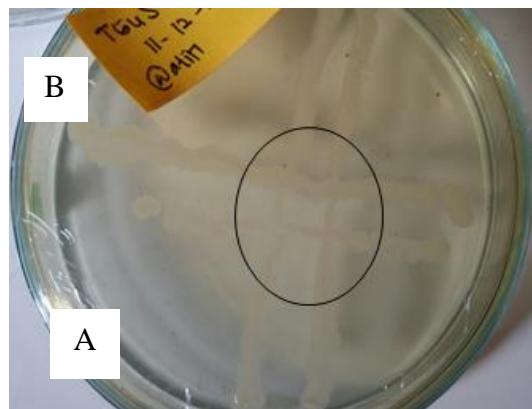


Gambar 1. Uji daya kecambah benih padi (A=INPAGO UNSOED 1; B=UNSOED PARIMAS; C=INPAGO 8). Daya kecambah varietas padi INPAGO UNSOED1 adalah 95%, UNSOED PARIMAS adalah 89%, dan INPAGO 8 adalah 97%.

Berdasarkan hasil perhitungan diperoleh bahwa daya kecambah dari varietas padi INPAGO UNSOED1 95%, UNSOED PARIMAS 89%, dan INPAGO 8 97%. Hasil ini mengindikasikan bahwa benih padi dapat tumbuh dengan normal. Nilai daya kecambah benih yang baik lebih dari 80% (Ningsih & Rahmawati 2017). Informasi tentang nilai daya kecambah sangat penting untuk mengetahui kemampuan benih yang tumbuh dengan normal dalam keadaan lingkungan yang optimum.

Karakteristik Bioassay, Uji kompatibilitas isolat. Uji kompatibilitas isolat dilakukan sebagai dasar pembentukan konsorsium yang akan digunakan dalam perlakuan *bioassay* ataupun formulasi bioferilizer dengan lebih dari satu mikroba. Hasil uji kompatibilitas isolat disajikan pada Gambar 2.

Berdasarkan hasil uji kompatibilitas isolat pada Gambar 2, isolat bakteri TG4 dan SR2 dapat dikonsorsiumkan. Indikasinya adalah tidak terbentuknya zona hambat di daerah pertemuan kedua isolat (tanda lingkaran hitam pada gambar). Isolat dikatakan positif dapat dikonsorsiumkan apabila tidak terbentuk zona hambat pada titik yang bersinggungan antarisolat (Safitri et al. 2018). Kedua isolat bakteri yang tidak saling menghambat dapat dikonsorsiumkan (digabungkan) dalam upaya mendukung pertumbuhan tanaman.



Gambar 2. Uji kompatibilitas isolat bakteri TG4 (A) dan isolat SR2 (B). Kedua isolat tampak tidak saling menghambat. Hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat di garis pertemuan dua isolat bakteri (lingkaran hitam).

Analisis ragam pertumbuhan padi gogo setelah aplikasi isolat bakteri. Respon pertumbuhan tiga varietas padi gogo dengan pemberian isolat bakteri diamati selama 14 hst. Hasil analisis sidik ragam uji F dengan taraf 5% disajikan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil analisis sidik ragam (*Analysis of Variance/ ANOVA*)

No.	Variabel	Varietas	Bakteri	Varietas x Bakteri
1	Tinggi tanaman	n	tn	tn
2	Jumlah daun	n	tn	tn
3	Panjang akar	tn	n	tn
4	Bobot basah tanaman	n	n	tn
5	Bobot kering tanaman	n	n	tn

Keterangan : n= berbeda nyata, tn= tidak berbeda nyata. Hasil analisis yang berbeda nyata dianalisis lebih lanjut menggunakan uji DMRT dengan taraf 5%.

Berdasarkan hasil analisis sidik ragam uji F dengan taraf 5% (Tabel 3) diperoleh hasil bahwa perlakuan varietas berpengaruh nyata terhadap variabel tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah, dan bobot kering tanaman. Perlakuan pemberian isolat bakteri berpengaruh nyata terhadap panjang akar, bobot basah, dan bobot kering tanaman. Sementara itu, interaksi antara varietas dan bakteri tidak berpengaruh nyata terhadap variabel pengamatan. Analisis lanjut menggunakan DMRT untuk mengetahui perlakuan varietas padi gogo disajikan pada Tabel 4, sedangkan analisis DMRT untuk mengetahui perlakuan jenis bakteri terhadap variable pengamatan disajikan pada Tabel 6.

Berdasarkan Tabel 4, perlakuan varietas berbeda nyata terhadap variable tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah tanaman, dan bobot kering tanaman. Hasil Tabel 4 menggambarkan bahwa varietas INPAGO 8 memiliki tinggi tanaman 23,6083 cm tidak berbeda nyata dibandingkan tinggi tanaman varietas UNSOED PARIMAS (21,3583 cm), namun berbeda nyata dengan varietas INPAGO UNSOED 1 (16,7292 cm). Hasil tinggi tanaman ini selaras dengan deskripsi ketiga varietas, yang menggambarkan bahwa varietas INPAGO 8 memiliki tinggi tanaman paling tinggi dibandingkan varietas INPAGO UNSOED1 dan UNSOED PARIMAS (Badan Litbang Pertanian 2011). Perbandingan deskripsi ketiga varietas disajikan pada Tabel 5.

Tabel 4. Hasil uji DMRT perlakuan varietas terhadap variabel pertumbuhan padi gogo

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun (helai)	Panjang akar (cm)	Bobot basah tanaman (g)	Bobot kering tanaman (g)

V1	16,7292 a	2,0000 a	11,2917	0,0296 a	0,0221 a
V2	21,3583 b	2,5417 b	11,3125	0,0357 b	0,0261 b
V3	23,6083 b	2,5000 b	11,2708	0,0356 b	0,0264 b

Keterangan : V1= INPAGO UNSOED 1, V2= UNSOED PARIMAS, dan V3= INPAGO 8. Angka yang diikuti huruf berbeda dalam kolom yang sama berarti berbeda nyata berdasarkan uji DMRT, sedangkan yang tidak diberi huruf dalam kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata.

Berdasarkan data yang disajikan pada Tabel 5, varietas UNSOED PARIMAS dan INPAGO 8 lebih tahan terhadap cekaman kekeringan dibandingkan INPAGO UNSOED 1. Hal ini yang diduga menjadi penyebab tinggi tanaman varietas INPAGO 8 dan UNSOED PARIMAS berbeda nyata dengan varietas INPAGO UNSOED 1. Tinggi tanaman ditentukan oleh jenis varietas yang memiliki adaptasi lebih baik terhadap lingkungan budidaya (Warda 2011). Sementara untuk jumlah daun, varietas UNSOED PARIMAS dan INPAGO 8 menunjukkan tidak berbeda nyata, sementara dengan varietas INPAGO UNSOED 1 menunjukkan berbeda nyata. Untuk variabel bobot basah tanaman, UNSOED PARIMAS dan INPAGO 8 menunjukkan tidak berbeda nyata, sementara dengan varietas INPAGO UNSOED 1 menunjukkan berbeda nyata. Kecenderungan yang sama ditunjukkan untuk hasil bobot kering tanaman, dengan varietas UNSOED PARIMAS dan INPAGO 8 tidak berbeda nyata, namun berbeda nyata untuk varietas INPAGO UNSOED 1.

Tabel 5. Deskripsi varietas padi

	INPAGO UNSOED 1	UNSOED PARIMAS	INPAGO 8
Umur tanaman	110 hari	111 hari	119 hari
Rata-rata hasil	4,9 ton/ha	6,19 ton/ha	5,2 ton/ha
Kerontokkan	Sedang	Tinggi	Sedang
Hama	Agak tahan terhadap wereng batang coklat (WBC) biotipe 1	Agak rentan WBC biotipe 1	Agak rentan terhadap wereng batang coklat biotipe 1
Penyakit	Tahan terhadap penyakit blas ras 133	Agak tahan blas ras 133	Tahan terhadap penyakit blas ras 133
Cekaman abiotik	• Agak toleran kekeringan	• Toleran kekeringan	• Toleran kekeringan

Keterangan: Data diolah dari <https://www.litbang.pertanian.go.id/>; <https://bbpadi.litbang.pertanian.go.id>

Berdasarkan Tabel 6, perlakuan isolat tunggal ataupun konsorsium menunjukkan hasil yang sama baiknya untuk semua variabel pengamatan seperti tinggi tanaman, jumlah daun, panjang akar, bobot basah, dan bobot kering. Namun perlakuan isolat bakteri baik secara tunggal maupun konsorsium menunjukkan nilai berbeda nyata dibandingkan kontrol tanpa aplikasi isolat bakteri. Hal ini menunjukkan bahwa isolat bakteri dapat mendukung variabel pengamatan dibandingkan tanpa pemberian isolat bakteri. Pemberian perlakuan perendaman benih dengan bakteri perakaran dapat mempercepat simbiosis antara akar dan bakteri, sehingga menghasilkan benih yang memiliki akar utama lebih panjang dan akar lateral lebih banyak (Uttari et al. 2016). Akar tanaman yang panjang (dalam menghujam ke tanah) dan lebih bercabang diyakini memberikan keuntungan tersendiri bagi tanaman untuk mendukung pertumbuhannya di lingkungan yang tidak optimum (Wang et al. 2017). Sebagai contoh, tanaman padi dengan akar yang dalam menunjukkan lebih resisten dan menghasilkan gabah lebih banyak pada kondisi kekeringan (Uga et al. 2013). Hasil ini, apabila disandingkan dengan hasil karakteristik PGPR isolat bakteri TG4 dan SR2 pada Tabel 1, maka hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4 saling berhubungan. Isolat bakteri TG4 dan SR2 memiliki karakteristik menghasilkan hormon IAA yang berperan penting dalam peningkatan panjang akar bibit tanaman padi (Purwanto et al. 2017).

Hasil perlakuan konsorsium isolat bakteri TG4 dan SR2 juga menunjukkan nilai bobot basah dan kering tanaman padi terbaik, secara berturut-turut adalah 0,0370 g dan 0,0272 g jika dibandingkan dengan perlakuan isolat tunggal ataupun kontrol. Ketersediaan hara yang cukup mempengaruhi penambahan bobot basah tanaman melalui bantuan konsorsium isolat bakteri sehingga aktivitas pembelahan sel meningkat. Aplikasi B3 juga meningkatkan bobot tanaman karena adanya IAA di daerah perakaran. Bakteri penghasil IAA berpengaruh positif pada benih padi sehingga kecambah mampu mensekresi IAA lebih tinggi. IAA menyebabkan pektin larut, dan dinding sel menjadi lunak sehingga dapat meningkatkan penyerapan air dan sel akan mengembang. Splikasi isolat bakteri dapat meningkatkan bobot basah dan kering tanaman sehingga dapat secara signifikan meningkatkan hasil tanaman padi gogo (Aksarah et al. 2019).

Tabel 6. Hasil uji DMRT perlakuan isolat bakteri terhadap variabel pertumbuhan padi gogo

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Jumlah daun (helai)	Panjang akar (cm)	Bobot basah tanaman (g)	Bobot kering tanaman (g)
B0	18,0278	2,2778	8,6389 a	0,0307 a	0,0222 a
B1	22,8611	2,3889	12,1944 b	0,0338 ab	0,0254 ab
B2	19,8333	2,3333	11,1111 b	0,0330 ab	0,0247 ab
B3	21,5389	2,3889	13,2222 b	0,0370 b	0,0272 b

Keterangan : B0= Kontrol, B1= isolat TG4, B2= isolat SR2, dan B3= isolat konsorsium (gabungan TG4 & SR2). Angka yang diikuti huruf berbeda dalam kolom yang sama berarti berbeda nyata berdasarkan uji DMRT, sedangkan yang tidak diberi huruf dalam kolom yang sama berarti tidak berbeda nyata.

Identifikasi Spesies Bakteri Berdasarkan Sekuen 16S rRNA. Urutan sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri TG4 dan SR2 diketahui berdasarkan analisis sekuensing menggunakan primer oligonukleotida 27F, 785F, dan 1492R. Hasil olah data menggunakan perangkat lunak Bioedit, panjang sekuen gen 16S rRNA isolat bakteri TG4 adalah 1401 bp, sedangkan isolat bakteri SR2 adalah 1398 bp. Urutan sekuen gen 16S rRNA kedua isolat bakteri telah diunggah ke laman GenBank dengan nomor aksesi MN788655 untuk TG4 dan MN788654 untuk SR2. Sekuen 16S rRNA dianalisis lanjut menggunakan Blast-n. Analisis Blast-n digunakan untuk menentukan kemiripan sekuen 16S rRNA isolat bakteri TG4 dan SR2 dengan isolat bakteri yang ada di database NCBI. Hasil analisis Blast-n sekuen 16S rRNA isolat bakteri TG4 dan SR2 disajikan pada Tabel 7.

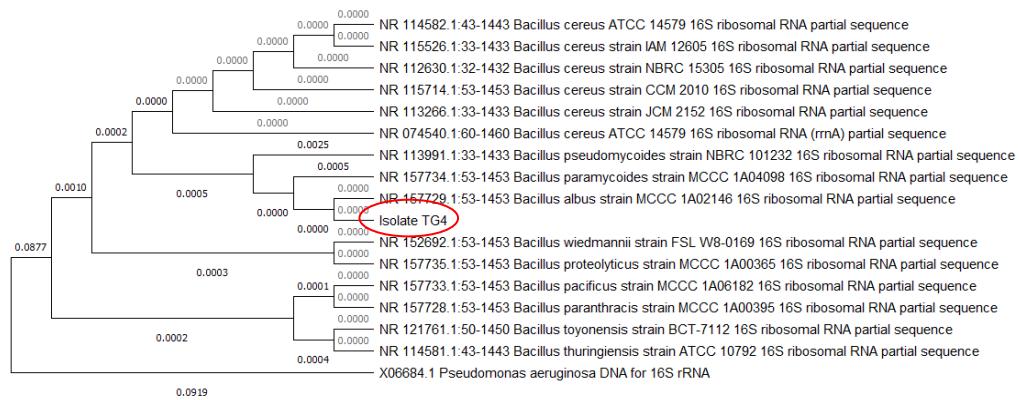
Tabel 7. Hasil analisis Blast-n sekuen 16S rRNA isolat TG4 dan SR2

Isolat	E Value	Percentage identity (%)	Spesies	Nomor Aksesi
TG4	0,0	100	<i>Bacillus albus galur MCCC 1A02146</i>	NR_157729.1
SR2	0,0	100	<i>Bacillus paramycooides galur MCCC 1A04098</i>	NR_157734.1

Berdasarkan hasil analisis Blast-n isolat bakteri TG4 dan SR2 yang disajikan pada Tabel 7, isolat bakteri TG4 memiliki kemiripan dengan spesies *Bacillus albus* galur MCCC 1A02146 (Nomor Akses NR_157729.1) yang terdapat dalam database NCBI GenBank. Hal ini didasarkan nilai *percentage identity* yang mencapai 100% dan E-value (nilai harapan) 0,0. Sementara itu, isolat bakteri SR2 memiliki kemiripan dengan *Bacillus paramycooides* galur MCCC 1A04098 (Nomor Akses NR_157734.1). Hal ini juga didasarkan nilai *percentage identity* yang mencapai 100% dan E-value (nilai harapan) 0,0. Suatu sampel

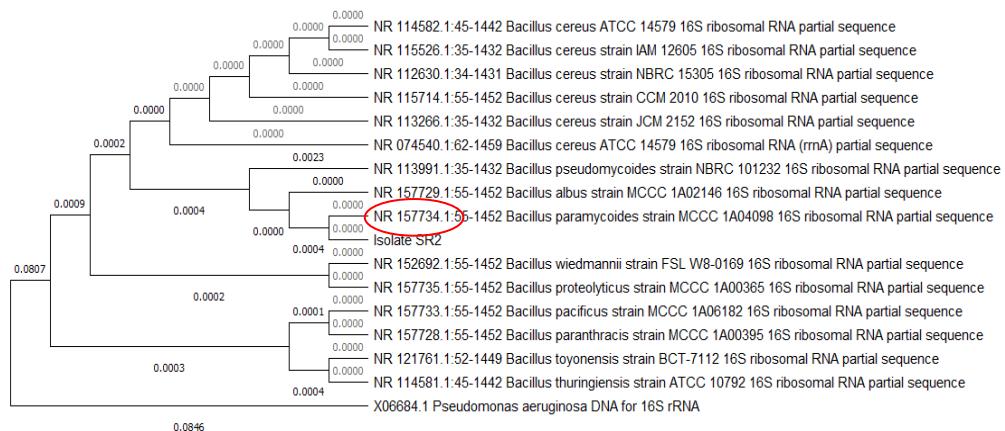
dapat dikatakan spesies yang identik jika nilai *percentage identity*-nya lebih besar dari 97,5% (Stackebrandt & Goebel 1994).

Analisis lebih lanjut sekuen 16S rRNA dilakukan menggunakan perangkat lunak MEGA X. Tujuannya analisis ini adalah mengkonstruksi pohon filogenetik yang menggambarkan hubungan kekerabatan isolat bakteri TG4 dan SR2 dengan isolat bakteri yang terdapat dalam database NCBI. Konstruksi pohon filogenetik untuk isolat bakteri TG4 disajikan pada Gambar 3, sedangkan untuk isolat bakteri SR2 disajikan pada Gambar 4.



Gambar 3. Pohon filogenetik isolat bakteri TG4. Pohon filogenetik menggambarkan hubungan kekerabatan antara isolat bakteri TG4 (lingkaran merah) dan 15 isolat bakteri yang terdapat dalam database NCBI. Sebagai isolat *outgroup* digunakan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan Gambar 3, isolat bakteri TG4 memiliki hubungan kekerabatan genetik yang sangat dekat dengan *B. albus* galur MCCC 1A02146. Isolat bakteri TG4 berada dalam sub-kluster yang sama dengan *B. albus* galur MCCC 1A02146 dengan jarak genetik 0,00. Hasil ini menguatkan hasil analisis Blast-n yang menunjukkan bahwa isolat bakteri TG4 memiliki kemiripan yang tinggi atau bisa dikatakan identik dengan *B. albus* galur MCCC 1A02146.



Gambar 4. Pohon filogenetik isolat bakteri SR2. Pohon ini menggambarkan hubungan kekerabatan antara isolat bakteri SR2 (lingkaran merah) dan 15 isolat bakteri yang terdapat dalam database NCBI. Sebagai isolat *outgroup* digunakan *Pseudomonas aeruginosa*.

Berdasarkan Gambar 4, isolat bakteri SR2 memiliki hubungan kekerabatan genetik yang sangat dekat dengan *B. paramycoides* galur MCCC 1A0498. Isolat bakteri SR2 dimasukkan ke dalam sub-kluster yang sama bersama dengan *B. paramycoides* dengan jarak genetik 0,000. Hasil konstruksi pohon filogenetik ini

Hadi, dkk : Karakterisasi Potensi dan Identifikasi Rizobakteri Indigenus Lahan Ultisol Untuk Mendukung Pertumbuhan menguatkan hasil analisis Blas-n yang menunjukkan isolat bakteri SR2 kemiripan yang tinggi dengan *B. paramycoides* galur MCCC 1A0498.

KESIMPULAN

Isolat bakteri TG4 merupakan bakteri pelarut fosfat dan memproduksi IAA, sedangkan isolat bakteri SR2 merupakan bakteri penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan produser IAA. Aplikasi isolat bakteri secara tunggal maupun konsorsium tidak berbeda nyata untuk semua variabel tanaman padi. Isolat bakteri TG4 diidentifikasi sebagai *B. albus*, sedangkan SR2 sebagai *B. Paramycoides*

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasi disampaikan kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Jenderal Soedirman atas dukungan pendanaan riset pada tahun 2019. Ucapan terimakasih juga diberikan untuk semua pihak yang turut andil bagian di dalam penelitian atau penulisan naskah ilmiah.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahadiyat, Y.R. & Ardiansyah., 2020. Aplikasi Pemupukan Pada System of Rice Intensification Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Padi Saat Musim Kemarau. *Jurnal Penelitian Pertanian Terapan*, 20(3), pp.213–217.
- Aksarah, A., Jumardin & Tibian, R., 2019. Response of Growth and Yield of Upland Rice Plants in Various Concentrations of Epifit Bacteria Isolate. *Galung Tropika*, 8(2), pp.74–81.
- Aly, M. M., El-Sayed, H., Sayed, A. El, & Jastaniah, S. D., 2012. Synergistic Effect between Azotobacter vinelandii and Streptomyces sp. Isolated From Saline Soil on Seed Germination and Growth of Wheat Plant. *Journal of American Science*, 8(5), pp.667–676.
- Asova, T. N. P., Jingga, A., Setiawati, M. R. & Simarmata, T., 2018. Uji hayati dan karakterisasi isolat rhizobakteri fosfat dengan indikator tanaman jagung. *Jurnal Penelitian Saintek*, 23(1), pp.43–51.
- Astriani, M. & Murtianingsih, H., 2018. Pengukuran Indole- 3-Acetic Acid (IAA) pada *Bacillus* sp dengan Penambahan L-Tryptopan. *Bioeduscience*, 2(2), pp.116–121. <https://doi.org/10.29405/j.bes/22116-1212233>
- Badan Litbang Pertanian. 2011. *Inpago* 8. <https://www.litbang.pertanian.go.id/varietas/796/> [10 November 2021]
- Dewi, T. K., SURYANGGONO, J. & AGUSTIYANI, D., 2016. Isolasi dan uji aktivitas bakteri penghasil hormon tumbuh IAA (Indole-3-Acetic Acid) dan Bakteri Perombak Protein dari Tanah Pertanian Tual, Maluku Tenggara. *PROS SEM NAS MASY BIODIV INDON*, 2, pp.271–276. <https://doi.org/10.13057/psnmbi/m020226>
- Hadi, S. N., Widiyawati, I. & Dewi, P. S., 2018. Isolasi bakteri lokal lahan marginal dan karakterisasi berdasarkan laju pertumbuhan pada media mengandung buprofezin. *Agrin*, 22(2), pp.171–178.
- Hall, T. A., 1999. Bioedit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41, pp.95–98.
- Javaid, M. K., Ashiq, M. & Tahir, M., 2016. Potential of Biological Agents in Decontamination of Agricultural Soil. *Scientifica*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/1598325>
- Kannahi, M. & Senbagam, N., 2014. Studies on siderophore production by microbial isolates obtained from rhizosphere soil and its antibacterial activity. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 6(4), pp.1142–1145.

- Karpagam, T. & Nagalakshmi, P. K., 2014. Isolation and characterization of Phosphate Solubilizing Microbes from Agricultural soil. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(3), pp.601–614.
- Kholida, F. T. & Zulaika, E., 2015. Potensi Azotobacter sebagai Penghasil Hormon IAA (Indole-3-Acetic Acid). *Jurnal Sains dan Seni ITS*, 4(2), pp.75–77.
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), pp.1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Larasati, E. D., Rukmi, M. I., Kusdiyantini, E. & Ginting, R. C. B., 2018. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Tanah Gambut. *Bioma : Berkala Ilmiah Biologi*, 20(1), pp. 1–8. <https://doi.org/10.14710/bioma.20.1.1-8>
- Lintang, C. W., Roviq, M. & Nihayati, E., 2018. Upaya Peningkatan Hasil Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata L*) terhadap Pemberian Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) dan Mikoriza. *Jurnal Protan*, 6(6), pp.1134–1139. <http://protan.studentjournal.ub.ac.id/index.php/protan/article/view/757>
- Mohite, B., 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), pp.638–649. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162013005000051>
- Mutiara, Rianto, F. & Wasian., 2017. Karakterisasi Bakteri Penambat N Asal Bayam Liar (*Amaranthus spinosus L*) Sebagai Pemacu Perkecambahan Benih Bayam Hijau (*Amaranthus spp. L*). *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, 10(2), pp.80–86. <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v10i2.2850>
- Ningsih, R. & Rahmawati, D., 2017. Aplikasi Paclobutrazol dan Pupuk Makro Anorganik Terhadap Hasil dan Mutu Benih Padi (*Oryza sativa L*). *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 1(1), pp.21–32. <https://doi.org/10.25047/agriprima.v1i1.21>
- Nurmas, A., Rahman, A. & Khaeruni, A., 2014. Eksplorasi dan karakterisasi Azotobacter indigenous lokal di lahan marginal. *Jurnal Agroteknos*, 4(2), pp.128–134.
- Purwanto, Yuwariah, Y., Sumadi, S. & Simarmata, T., 2017. Nitrogenase activity and IAA production of indigenous diazotroph and its effect on rice seedling growth. *Agrivita*, 39(1), pp.31–37. <https://doi.org/10.17503/agrivita.v39i1.653>
- Rahni, N. M., 2012. Efek Fitohormon PGPR Terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays*). *Jurnal Agribisnis Dan Pengembangan Wilayah*, 3(16), pp.27–35.
- Roni, N. G. K., Witariadi, N. M., Candraasih, N. N. K. & Siti, N. W., 2013. Pemanfaatan bakteri pelarut fosfat untuk meningkatkan produktivitas kudzu tropika (*Pueraria phaseoloides benth.*). *Pastura*, 3(1), pp.13–16. <https://doi.org/10.24843/Pastura.2013.v03.i01.p04>
- Safitri, R. N., Shovitri, M. & Hidayat, H., 2018. Potensi Bakteri Koleksi sebagai Biofertilizer. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 7(2), pp.53–56. <https://doi.org/10.12962/j23373520.v7i2.37137>
- Saharan, B. S. & Nehra, V., 2011. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. *Life Sciences and Medicine Research*, 2011(4), pp.1–30.
- Sharon, J. A., Hathwaik, L. T., Glenn, G. M., Imam, S. H. & Lee, C. C., 2016. Isolation of efficient phosphate solubilizing bacteria capable of enhancing tomato plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16(2), pp.525–536. <https://doi.org/10.4067/S0718-95162016005000043>
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M. & Hafidi, M., 2020. Exploiting Biological Nitrogen Fixation : A Route. *Plants*, pp.1–22.

Hadi, dkk : Karakterisasi Potensi dan Identifikasi Rizobakteri Indigenus Lahan Ultisol Untuk Mendukung Pertumbuhan

- Stackebrandt, E. & Goebel, B. M., 1994. Taxonomic note: A place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 44(4), pp.846–849. <https://doi.org/10.1099/00207713-44-4-846>
- Subardja, V., Muharam, M. & Nugraha, S., 2017. Karakteristik Pertumbuhan dan Hasil Jagung Manis Dilahan Marginal Dengan Dosis Pemupukan N yang Berbeda. *Jurnal Agrotek Indonesia*, 2(1), pp.7–12.
- Tefa, A., 2017. Jurnal Pertanian Konservasi Lahan Kering International Standard of Serial Number 2477-7927 A. *Jurnal Pertanian Konservasi Lahan Kering*, 2(3), pp.48–50.
- Uga, Y., Sugimoto, K., Ogawa, S., Rane, J., Ishitani, M., Hara, N., Kitomi, Y., Inukai, Y., Ono, K., Kanno, N., Inoue, H., Takehisa, H., Motoyama, R., Nagamura, Y., Wu, J., Matsumoto, T., Takai, T., Okuno, K. & Yano, M., 2013. Control of root system architecture by DEEPER ROOTING 1 increases rice yield under drought conditions. *Nature Genetics*, 45(9), pp.1097–1102. <https://doi.org/10.1038/ng.2725>
- Uttari, N. N. D., Nyana, I. D. N. & Astiningsih, A. A. M., 2016. Efektivitas Penggunaan Pupuk Hayati (Enterobacter Cloacae) Untuk Meningkatkan Hasil Dan Mutu Benih Padi Varietas Cigeulis. *E-Jurnal Agroekoteknologi Tropika (Journal of Tropical Agroecotechnology)*, 5(1), pp.83–92.
- Vishwakarma, D., Thakur, J. K. & Gupta, S., C. 2017. Study of Production of Indole Acetic Acid by Soil and Plant Bacterial Isolates on Different Media. *International Journal of Chemistry Studies*, 5(6), pp.639–641.
- Wang, Y., Zhang, T., Wang, R. & Zhao, Y., 2017. Recent advances in auxin research in rice and their implications for crop improvement. *Journal of Experimental Botany*, 69(2), pp.255–263. <https://doi.org/10.1093/jxb/erx228>
- Warda., 2011. Keragaan beberapa varietas unggul baru padi gogo di Kabupaten Bantaeng Sulawesi Selatan. *Prosiding Seminar Nasional Serealia*, pp.1–8.
- Widiyawati, I., Junaedi, A., Widyastuti, R., Meranti, J. & Dramaga, K. I. P. B., 2014. Peran Bakteri Penambat Nitrogen untuk Mengurangi Dosis Pupuk Nitrogen Anorganik pada Padi Sawah. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, 42(2), pp.96–102. <https://doi.org/10.24831/jai.v42i2.8424>