

Isolasi dan uji efektivitas *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merr.) var. Wilis

Isolation and test the effectiveness of Plant Growth Promoting Rhizobacteria on marginal land on the growth of soybean (*Glycine max* L. Merr.) var. Willis

SRI WIDAWATI[✉], SULIASIH, SAEFUDIN

Bidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta Bogor Km 46 Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat, Jawa Barat. Tel./Fax. +62-21-8765066/+62-21-8765062, ✉Email: widadomon@yahoo.com

Manuskrip diterima: 3 Desember 2014. Revisi disetujui: 29 Desember 2015.

Abstrak. Widawati S, Suliasih, Saefudin. 2014. Isolasi dan uji efektivitas *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* L. Merr.) var. Wilis. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (1)*: 59-65. Sebanyak 14 isolat PGPR telah berhasil diisolasi dan diidentifikasi dari bintil akar serta tanah rizosfir kedelai asal Cibinong (CSC) dan legum asal Gunung Susu, Wamena, Papua (tanah marginal). Isolat yang sudah teridentifikasi dimanfaatkan sebagai POH (pupuk organik hayati) untuk meningkatkan produksi tanaman. POH AZOFOR1 (*Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, *Rhizobium* sp.3 diisolasi dari bintil akar kedelai + *Azotobacter* dan *Azospirillum*), AZOFOR2 (*Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. anthiana* diisolasi dari rizosfir tanaman kedelai + *Azotobacter* dan *Azospirillum*), dan AZOFOS (*Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. pantothenicus* diisolasi dari Gn Susu + *Azotobacter* dan *Azospirillum*) diuji efektivitasnya pada tanaman kedelai. Dilakukan pada lahan bekas tanaman bambu di Cibinong Science Center dengan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 5 ulangan serta 8 perlakuan, yaitu: Tanpa Pupuk, Pupuk Kompos, Pupuk Kimia, POH AZOFOR1, POH AZOFOR2, POH AZOFOS, dan POH MIX. Hasil analisa tanah setelah tanam menunjukkan, bahwa populasi bakteri, P tersedia, PMEase, dan pH meningkat dari 1,00 x 10⁵ CFU/g tanah; 0,65 g/L; 0,001 ug/p nitrofenol/g/jam dan 5,80 menjadi 10⁷; 0,91/0,95 g/L; 0,019/0,024/0,39 ug/p nitrofenol/g/jam, dan 7.1 setelah dipupuk oleh POH Mix, POH Azofor1, dan POH azofor2. Efektivitas ke tiga pupuk tersebut berpengaruh pada berat polong, berat biji, berat kulit, berat tanaman per petak dan per sepuluh pohon serta jumlah bintil dan jumlah polong per sepuluh pohon, yaitu 3040;2130;1530 g; 1840; 1330; 860 g; 1200; 800; 670 g; 7,7; 5,8; 4,1 Kg per petak dan 229,40; 227,42; 183,04 g; 130,5; 126,4; 116,37 g; 480; 440; 400 g per sepuluh pohon serta 129; 119; 112 butir; 512; 483; 460 buah per sepuluh pohon. Efektivitas PGPR yang terkandung dalam POH Mix (14 isolat) berpengaruh positif pada kesuburan tanah (populasi bakteri biofertilizer meningkat) serta pertumbuhan dan produksi kedelai.

Kata kunci : BPN, BPF, PGPR, POH, kedelai, tanah marginal

Abstrak. Widawati S, Suliasih, Saefudin. 2014. Isolation and effectiveness test of *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* in marginal land on the growth of soybean (*Glycine max* L. Merr.) var. Willis. *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon 1 (1)*: 59-65. A total of 14 isolates PGPR have been isolated and identified from the nodule and soybean rhizosphere soil from Cibinong (CSC) and legumes from Mount Susu, Wamena, Papua (marginal soils). The identified isolates were utilized as POH (biorganic fertilizer) to increase crop production. POH AZOFOR1 (*Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, sp.3 *Rhizobium* isolated from root nodules of soybean + *Azotobacter* and *Azospirillum*), AZOFOR2 (*Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. anthiana* isolated from the rhizosphere of plants soy + *Azotobacter* and *Azospirillum*), and AZOFOS (*Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. pantothenicus* isolated from milk Gn + *Azotobacter* and *Azospirillum*) will be examined for its effectiveness in soybean plants. The experiments were conducted in the laboratory (analysis) and in the ex-bamboo growing area of Cibinong Science Center (effectiveness test). A randomized block design (RBD) was set with eight factorial treatments (five replications), namely: Without Fertilizer, Compost, Fertilizer Chemicals, POH AZOFOR1, POH AZOFOR2, POH AZOFOS, and POH MIX. The analysis result showed that the bacterial population, P available, PMEase, and the pH increased from 1.00 x 10⁵ CFU/g soil; 0.65 g/L; 0.001 ug/p nitrofenol/g/h and 5.80 to 10⁷; 0.91/0.95 g/L; 0.019/0.024/0.39 ug/p nitrofenol/g/h, and 7.1 after fostered by POH Mix, POH Azofor1, and POH azofor2. The effectiveness of all three fertilizer was observed on pod weight, seed weight, shell weight, the weight of plants per plot and per ten trees and the number of nodules and number of pods per ten trees, ie 3040; 2130; 1530 g; 1840; 1330; 860 g; 1200; 800; 670 g; 7.7; 5.8; 4.1 Kg per plot and 229.40; 227.42; 183.04 g; 130.5; 126.4; 116.37 g; 480; 440; 400 g per ten trees and 129; 119; 112 grains; 512; 483; 460 pieces per ten trees. Effectiveness of PGPR contained in POH Mix (14 isolates) showed positive effect on soil fertility (biofertilizer increased bacterial population) as well as the growth and production of soybean.

Keywords: BPN, BPF, PGPR, POH, soybeans, marginal soil.

PENDAHULUAN

Produksi kedelai Indonesia saat ini belum mampu memenuhi kebutuhan dalam negeri dan sekitar 70 % kebutuhan dalam negeri masih diimpor dari negara lain. Penyebabnya adalah terbatasnya areal tanah subur, harga pupuk yang mahal, dan produksi kedelai per hektarnya yang masih rendah. Produksi di Indonesia tahun 2012 sekitar 800.000 ton/tahun, sedangkan yang dibutuhkan sekitar 2.300.000-2.500.000 ton/tahun kedelai. Menurut data di direktorat Bina Rehabilitasi dan Pengembangan lahan di Indonesia mempunyai 7,5 juta ha lahan potensial kritis, 6,0 jta ha semi kritis dan 4,9 ha kritis (Subiksa,2002). Pemerintah berupaya memanfaatkan lahan tersebut untuk dapat meningkatkan produksi kedelai.

Biji kedelai adalah jenis tanaman dengan karakter protein tinggi (\pm 30-50%), dan membutuhkan unsur hara, terutama hara N untuk pertumbuhannya (Richard dan Henry. 1984). Unsur hara N dalam tanah kurang memadai bagi kebutuhan tanaman. Sumber terbesar nitrogen 78 % terdapat diudara dalam bentuk N_2 yang tidak dapat dimanfaatkan oleh tanaman. Dibutuhkan bakteri yang mampu menambat nitrogen dari udara maupun dari dalam tanah agar tersedia bagi tanaman. Bakteri tersebut juga harus mampu melarutkan P terikat dan sekaligus mampu memproduksi hormon tumbuh (IAA). Bakteri dengan kemampuan seperti itu disebut PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) yang akan membantu dalam pertumbuhan dan produksinya tanaman serta membantu secara bertahap dalam memulihkan kesuburan tanah.

Salah satu cara untuk mengembalikan kesuburan tanah adalah dengan menggunakan bakteri yang bermanfaat dan bersifat memupuk seperti kelompok bakteri PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Beberapa bakteri dari kelompok PGPR adalah bakteri penambat nitrogen seperti genus *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* dan bakteri pelarut fosfat seperti genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Arthrobacter*, *Bacterium*, dan *Mycobacterium* (Biswas et al., 2000). Bakteri *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum* 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 *Leguminosae* (Kyuma 2004). *Azospirillum* dan *Azotobacter* merupakan bakteri non simbiotik yang berasosiasi dengan berbagai tanaman. Bakteri-bakteri tersebut mempunyai kemampuan menambat nitrogen bebas dari udara sehingga unsur N tersedia bagi tanaman, serta sebagai pemantap agregat tanah dan interaksinya akan berpengaruh kepada pertumbuhan tanaman. *Azospirillum* 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 (Nurosid 2008). Ketiga jenis bakteri PGPR dapat menghasilkan hormon pertumbuhan seperti IAA (Widawati

2014). Secara tidak langsung bakteri PGPR dapat menghambat pathogen melalui sintesis senyawa antibiotik, sebagai kontrol biologis (Saraswati dan Sumarno 2008). Bakteri lain yang dapat memproduksi IAA adalah bakteri pelarut fosfat (BPF) seperti genus *Pseudomonas*, *Bacillus*, dan *Cerratia*, (Widawati 2014). Bakteri pelarut fosfat merupakan satu-satunya kelompok bakteri yang dapat melarutkan P yang terjerap permukaan oksida-oksida besi dan almunium sebagai senyawa Fe-P dan Al-P (Hartono 2000). Bakteri tersebut berperan juga dalam transfer energi, penyusunan protein, koenzim, asam nukleat dan senyawa-senyawa metabolik lainnya yang dapat menambah aktivitas penyerapan P pada tumbuhan yang kekurangan P (Rao 1994).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas PGPR yang terkandung dalam pupuk organik hayati (POH) Azofor 1, Azofor 2, Azofos dan Mix di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai (pertumbuhan dan produksi).

BAHAN DAN METODE

Material mikroba

Sampel bintil akar dan tanah diambil secara random dari bintil dan rhizosfir (kedalaman 20 cm) tanaman kedelai di sekitar Cibinong Science Center (CSC) Cibinong, Bogor, Jawa Barat dan diambil dari rizosfir tanaman legum di Gunung Susu, Wamena, Jayawijaya, Papua.

Cara kerja

Isolasi, identifikasi, pembuatan inokulan cair, dan uji laboratorium

Tanah diayak dan dikering anginkan kemudian dibawa ke laboratorium ekofisiologi, Mikrobiologi, P2B, LIPI dalam icebox. Isolasi dan penghitungan populasi bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat dilakukan dengan metode *plate count* (Vincent 1982). Sampel tanah diisolasi dengan menggunakan media selektif, yaitu : Medium Yema (*yeast extract manitol agar*) untuk *Rhizobium* (Rao,1994), medium Okon (Rao 1994), medium nitrogen-free semisolid malate/NFb (Baldani et al.1980), dan medium Caceres (Caceres 1982) untuk *Azospirillum*, medium Agar manitol Ashby untuk *Azotobacter* (Rao 1994), dan medium Pikovskaya untuk bakteri pelarut fosfat (Gaur 1981) dengan sumber P dari $Ca_3(PO_4)_2$. Isolat-isolat dimurnikan menggunakan media yang sama dan disimpan dalam inkubator suhu 27°C. Selanjutnya diidentifikasi dan dianalisa kemampuannya dalam memproduksi P tersedia, PMEase, dan IAA di laboratorium.

Isolat bakteri murn diidentifikasi menggunakan metode molekuler (analisis *sequencing*) dengan 16S rDNA (Woo 2008). Isolat diamplifikasi oleh *polymerase chain reaction* (PCR) untuk analisis *sequencing*. Kemudian urutan data diidentifikasi dengan menggunakan BLAST dan EzTaxon untuk membandingkan dengan urutan 16S rDNA di database umum. Data gelombang dikumpulkan dan dipotong urutan primernya dengan menggunakan software ATGC. Urutan dirakit (contig) dibandingkan dengan

database umum yang sudah diterbitkan. Urutan yang dibuat oleh database publik (BLAST pada situs NCBI dan EzTaxon) digunakan untuk mengidentifikasi isolat.

Bakteri yang sudah teridentifikasi, kemudian diuji efektivitasnya skala laboratorium dalam bentuk inokulan cair. Analisa kualitatif dari kemampuan BPN dan BPF dalam aktivitasnya melarutkan unsur P terikat dengan metode Tabatabai dan Bremner (1969). Uji kualitatif kemampuan BPN dan BPF dalam aktivitas pelarutan unsur P terikat pada medium pikovskaya padat dengan sumber P dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dilakukan dengan metode Nguyen et al. (1992) dan Seshadri et al. (2002). Bakteri Penambat Nitrogen (BPN) dan Bakteri Pelarut Fosfat (BPF) yang mampu melarutkan fosfat terikat akan ditandai dengan adanya zona bening (*holozone*) disekitar pertumbuhan koloni. Uji kemampuan kuantitatif BPN dan BPF dalam aktivitas pelarutan fosfat terikat pada media Pikovskaya cair menggunakan metode Allen (1974) dan aktivitas enzim fosfomonoesterase (PME-ase) serta kondisi pH selama inkubasi 7 hari pada kultur murni (pH asal =7) menggunakan metode Tabatabai dan Bremner (1969). Kultur dipanen dan disentrifugasi 10 menit, lalu fosfat yang dapat larut diukur menggunakan metode Anderson (1982). Analisa produksi IAA dari seluruh bakteri yang diuji dan dijadikan pupuk organik hayati bakteri menggunakan metode Gravel et al. (2007).

Pembuatan inokulan, Inokulasi dan penanaman di lapangan

Inokulan bakteri padat dibuat menggunakan bahan pembawa berupa kompos steril. Kemudian kedalam inokulan padat disuntikkan inokulan cair yang merupakan campuran beberapa biakan bakteri dengan perbandingan 100 g kompos steril/60 mL media cair. Inokulan padat AZOFOR 1 kedalamnya disuntikan masing-masing 10 mL inokulan cair dari bakteri *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, *Rhizobium* sp.3, *Azotobacter*, dan *Azospirillum*. Inokulan padat AZOFOR 2 kedalamnya disuntikan masing-masing 10 mL inokulan cair dari bakteri *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. Anthiana*, *Azotobacter* dan *Azospirillum*. Inokulan padat AZOFOS kedalamnya disuntikan masing-masing 10 mL inokulan cair dari bakteri *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. Pantothenicus*, *Azotobacter* dan *Azospirillum*. Inokulan bakteri diinkubasi dalam suhu kamar selama 1 minggu, kemudian populasi bakterinya dihitung. Penghitungan populasi bakteri menggunakan metode *plate count* (Vincent 1982) dan jumlahnya pada masing-masing inokulan mempunyai range sekitar 10^8 - 10^9 cfu/g.

Bahan yang digunakan adalah biji kedelai (*Glycine max* L. Merr) varietas Wilis dan inokulan pupuk organik hayati. Inokulasi dilakukan dengan merendam biji kedelai yang sudah bersih (dicuci dengan alkohol dan dibilas dengan aquades steril) dalam akuades steril yang masing-masing mengandung pupuk organik hayati AZOFOR 1, AZOFOR 2, dan AZOFOS selama 30-60 menit. Kemudian biji tersebut ditanam di tanah kebun biologi (bekas kebun bambu) yang sudah dibuat bedengan-bedengan (petak). Luas bedengan/petak kurang lebih panjang = 5 meter dan

lebar 1 meter dengan jarak tanam 25 x 40 cm dan 2 biji kedelai per lubang.

Analisa data

Percobaan menggunakan Rancangan Acak Kelompok (RAK) yang disusun secara faktorial dengan 5 ulangan serta 8 perlakuan, yaitu : Tanpa Pupuk, Pupuk Kompos, Pupuk Kimia, POH AZOFOR 1, POH AZOFOR 2, POH AZOFOS, dan POH MIX. Tanaman dipanen setelah umur 80 HST. Parameter yang diukur yaitu berat tanaman/10 pohon (g), jumlah bintil/10 pohon (butir), berat polong/10 pohon (g), jumlah polong/10 pohon (buah), berat biji/10 pohon (g), serta Berat polong/petak (g), berat biji/petak (g), berat kulit/petak (g), dan berat tanaman/petak (kg). Analisis statistik (data) menggunakan SPSS soft ware yang diuji dengan metode Duncan Multiple Range Test pada taraf uji 5 %.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penyebaran populasi bakteri, khususnya bakteri bintil akar atau penambat nitrogen, tidak hanya didapatkan dalam bintil akar saja, tetapi menyebar di daerah rizosfir atau derah lapisan tanah lainnya. Dilaporkan oleh Jolly et al. (2010) bahwa bakteri *Azospirillum* menyebar luas pada daerah rizosfir di beberapa tanaman rumput tropis. Sedangkan bakteri *Azospirillum* dan *Bacillus* dijumpai pada rizosfir padi dan mengkolonisasi dipermukaan akar (Baldani et al. 1997) dan secara hayati merupakan bakteri heterotrofik dalam tanah dan zona akar (Kyuma 2004). Menurut Biswas et al. (2000) genus *Rhizobium*, *Azotobacter*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Bacterium*, *Mycobacterium*, dan *Pseudomonas* tersebar di rizosfir dan termasuk dalam PGPR dan mampu memproduksi hormon IAA yang dapat menginduksi tanaman secara langsung dan dapat meningkatkan laju pertumbuhan tanaman (Maor et al. 2004).

Hasil isolasi dengan menggunakan media selektif (Yema, Okon, NFb, Caceres, Agar manitol Ashby, Pikovskaya) didapatkan 20 isolat murni dan hasil identifikasi secara molekular dengan BLAST dan EzTaxion didapatkan 9 jenis dan 2 genus bakteri, yaitu : *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, *Rhizobium* sp.3 (diisolasi dari bintil akar kedelai), *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. anthiana* (diisolasi dari rizosfir tanaman kedelai), *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. Pantothenicus*, *Azotobacter* sp., dan *Azospirillum* sp. (diisolasi dari Gn Susu, Wamena, Papua). Khusus bakteri *Azospirillum* diuji pada media nitrogen-free semisolid malate/NFb dan jika warna media berubah dari hijau menjadi kuning dan bagian atas terbentuk selaput cincin berwarna biru, maka menurut Baldani et al. (1980) telah terjadi aktivitas nitrogenase bakteri penambat N.

Analisis laboratorium

Genus bakteri PGPR (9 isolat) mampu melarutkan P terikat pada $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam media Pikovskaya cair

(Tabel 1). Inokulan cair merupakan bahan dasar untuk membuat POH AZOFOR 1 dan 2, serta AZOFOS.

Terlihat bahwa 9 isolat positif dapat melarutkan P (membentuk zona bening disekitar koloni), memproduksi enzim PMEase dan P tersedia bagi tanaman. Bakteri penambat N genus *Rhizobium* tidak mampu melarutkan fosfat, tetapi *Azotobacter* dan *Azospirillum* dan yang lainnya mampu melarutkan P terikat pada $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Genus *Rhizobium* memang jarang yang dapat melarutkan P, tetapi genus *Azotobacter*, *Azospirillum*, dan *Burkholderia* banyak yang mampu melarutkan fosfat. Seperti yang dihasilkan dari penelitian Widawati dan Muharam (2012), bahwa bakteri *Rhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter* dapat menyediakan unsur N dan beberapa mampu menyediakan unsur P (unsur esensial) bagi tanaman serta dapat memproduksi hormon tumbuh seperti IAA (Indol Asam Asetat). Bakteri tersebut akan menambat N dari udara dan mengubahnya menjadi NH_3 dengan menggunakan nitrogenase, kemudian NH_3 diubah menjadi glutamin atau alanin (Waters et al. 1998).

Penurunan pH pada inokulan cair menandakan bahwa telah terjadi pelarutan fosfat. Menurut Widawati dan Muharam (2012), penurunan pH terjadi karena pada proses pelarutan P terikat oleh bakteri pelarut fosfat terjadi proses oksidasi, reduksi, dan kompetisi ligan organik dan hasil dari sintesis senyawa organik dilepas ke dalam inokulan cair (media Pikovskaya). Ramachandran et al. 2007) mengemukakan bahwa bakteri yang dapat mengeluarkan fosfat organik dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ dalam medium cair merupakan bakteri yang potensial dalam melarutkan P terikat menjadi P tersedia bagi tanaman. Berdasarkan data tersebut terlihat semua isolat mampu menghasilkan enzim PME-ase, menurut (Savin et al. 2000) peningkatan tersebut

terjadi karena adanya proses induksi pada saat jumlah P terbatas dalam media Pikovskaya dan pada saat bakteri tumbuh, sehingga membutuhkan P yang tinggi.

Semua isolat mampu memproduksi hormon tumbuh IAA. Hormon IAA tertinggi diproduksi oleh *Bacillus cereus*, *Azotobacter* dan *Azospirillum* (6.0842; 6.1444; 6.2132 ppm). Khususnya *Azospirillum*, bakteri ini dapat menghasilkan hormon pertumbuhan hingga 285,51 mg/liter dari total medium kultur, sehingga dapat meningkatkan efisiensi pemupukan (Akbari et al. 2007). Dikemukakan juga oleh Alexander (1977), bahwa *Azotobacter* merupakan bakteri fiksasi N_2 yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh IAA, sehingga dapat memacu pertumbuhan akar, juga dapat memproduksi hormone sitokinin (Gholamit et al. 2009). Hasil penelitian Gusnaniar (2007) ternyata *Rhizobium* sp. Memproduksi hormone IAA tertinggi yaitu sebesar 51,08 $\mu\text{g/mL}$. Jadi seluruh bakteri yang teridentifikasi merupakan bakteri PGPR karena mampu memproduksi hormone IAA.

Hasil analisa tanah Cibinong sebagai media tanam dapat dibaca pada Tabel 2. Analisa tanah menunjukkan pH dengan kisaran 4,5-5,5 dengan tingkat kandungan unsur hara sangat rendah (P, K, C/N ratio), rendah (Nadd, Mgdd, Aldd), sedang (N), dan tinggi (Ca), serta rendahnya jumlah populasi bakteri yang bersifat biofertilizer (10^4 - 10^5 cfu/g). Keadaan tanah seperti ini termasuk dalam katagori tanah tidak subur atau marginal. Menurut Obaton (1977) tanah yang subur akan mengandung jumlah populasi bakteri $\geq 10^7$ dan semakin tinggi populasi mikroba tanah, maka akan semakin tinggi aktivitas biokimia dalam tanah dan semakin tinggi pula indeks kualitas tanah (Karlen et al. 2006), khususnya dalam hal kesuburannya.

Tabel 1. Hasil rata-rata produksi IAA, PMEase, dan oleh PGPR pada inokulan cair (pH asal = 7.0)

Bakteri PGPR yang dianalisa	Pelarutan P	IAA (ppm)	PMEase (ug/p nitrofenol/g/72jam)	P tersedia (mg/L)	Populasi bakteri (cfu/mL)	pH
<i>B. japonicum</i>	-	3.1692	-	-	10^9	7.0
<i>Rhizobium</i> sp.1	-	3.3297	-	-	10^9	7.0
<i>Rhizobium</i> sp.2	-	3.4155	-	-	10^9	7.0
<i>Rhizobium</i> sp.3	-	3.1276	-	-	10^9	7.0
<i>R. leguminosarum</i>	-	3.1104	-	-	10^9	7.0
<i>B. cepacea</i>	+	3.8289	2.4967	4.9432	10^9	6.0
<i>B. cenospacea</i>	+	3.7368	2.5321	4.2238	10^9	5.2
<i>B. anthiana</i>	+	2.1316	4.6086	6.3942	10^9	5.8
<i>Bacillus cereus</i>	+	6.0842	4.1352	6.6837	10^9	5.3
<i>B. thuringiensis</i>	+	4.4155	4.0134	6.7289	10^9	5.1
<i>B. megaterium</i>	+	4.4791	4.1288	7.5416	10^9	4.8
<i>B. Pantothenicus</i>	+	2.6316	4.1011	7.0914	10^9	4.6
<i>Azotobacter</i> sp.	+	6.1444	1.1337	2.3813	10^9	6.0
<i>Azospirillum</i> sp.	+	6.2132	1.6437	2.1209	10^9	6.0

Tabel 2. Analisa tanah (Lempung liat berdebu = 22 : 59)

Sampel	P %	K %	C %	N %	C/N	Ca %	Mg dd %	Na dd %	Al dd %	pH	Σ Populasi bakteri cfu/g
Tanah bekas kebun bambu	0.173	0.045	1.303	0.36	3.61	11.41	0.57	0.30	0.04	5.8	10^4 - 10^5
	Sangat rendah	Sangat rendah	Rendah	Sedang	Sangat rendah	Tinggi	Rendah	Rendah	Rendah	Asam	Tidak subur

Tabel 3. Hasil rata-rata analisa tanah sebelum dan sesudah tanam (Pemupukan)

Sampel/Perlakuan	pH tanah	P tersedia (mg/g)	PME-ase (ug/p nitrofenol/g/jam)	Populasi bakteri (cfu/g)
Tanah Asal	5,80	0.65 a	0.001 a	1,00 x 10 ⁵
Tanah sesudah panen				
Tanpa Pupuk	5,80	0.65 a	0.001 a	1,00 x 10 ⁵
Pupuk Kompos	6.45	0.81 c	0.015 bc	2,00 x 10 ⁶
Pupuk Kimia	6.44	0.72 b	0.014 b	1,00 x 10 ⁵
POH Azofor 1	7.02	0.91 d	0.019 cd	3,00 x 10 ⁷
POH Azofor 2	7.01	0.83 c	0.018 bc	3,00 x 10 ⁷
POH Azofos	7.04	0.95 d	0.024 d	3,00 x 10 ⁷
POH Mix	7.12	0.95 d	0.039 e	4,00 x 10 ⁷

Keterangan: Angka rerata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 4. Hasil Panen kedelai per 10 pohon

Perlakuan	Berat tanaman/10 pohon (g)	Σ bintil /10 pohon (butir)	Berat polong/10 pohon (g)	Σ polong /10 pohon (buah)	Berat biji /10 pohon (g)
Tanpa Pupuk	290 a	78 a	150.50 a	380 a	87.42 a
Pupuk Kompos	290 a	97 c	150.85 a	372 a	99.94 bc
Pupuk Kimia	320 ab	85 b	151.20 a	397 a	100.7 c
POH Azofor 1	440 cd	119 e	227.42 d	483 cd	126.4 e
POH Azofor 2	400 c	112 d	183.04 c	460 bc	116.37 d
POH Azofos	360 b	98 c	177.12 b	425 ab	103.3 c
POH Mix	480 d	129 f	229.40 d	512 d	130.5 e

Keterangan: Angka rerata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT pada taraf 5%.

Tabel 5. Hasil panen berat kering kedelai per petak

Perlakuan	Berat polong/petak (g)	Berat biji/petak (g)	Berat kulit/petak (g)	Berat brangkas/petak (kg)
Tanpa Pupuk	250 a	130 a	120 a	1.3 a
Pupuk Kompos	860 b	550 b	310 b	2.3 b
Pupuk Kimia	910 b	520 b	390 c	2.5 b
POH Azofor 1	2130 e	1330 e	800 f	5.8 d
POH Azofor 2	1530 d	860 d	670 e	5.7 d
POH Azofos	1240 c	740 c	500 d	4.0 c
POH Mix	3040 f	1840 f	1200 g	7.7 e

Keterangan: Angka rerata yang diikuti huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata dengan uji DMRT pada taraf 5%.

Secara statistik pemberian POH Azofor1, POH azofor2, dan POH azofos pada analisa P tersedia, PMEase, dan pH, ternyata berbeda nyata sebelum dan sesudah tanam (Tabel 3). Terlihat bahwa pemberian pupuk organik hayati AZOFOR1, AZOFOR2, dan AZOFOS lebih baik dibandingkan pupuk kompos, pupuk kimia dan pupuk kimia serta kompos lebih baik dari kontrol. Hasil tertinggi diperoleh dari tanah yang diberi pupuk organik hayati Mix (POH Mix). Pada Tabel 3 terbaca bahwa pupuk organik hayati yang diberikan dapat menaikkan pH asam (5,8) menjadi netral (\pm 7.12) dan menaikkan jumlah populasi bakteri sekitar 3×10^2 atau 0,00075 % cfu/g tanah yaitu dari $1,00 \times 10^5$ menjadi $2,00 \times 10^6$ - $4,00 \times 10^7$ CFU/g tanah. Menurut Alexander (1977) populasi bakteri dalam tanah dipengaruhi oleh pemupukan dan jenis tanaman. Rendahnya pH tanah akan berdampak pada unsur P terikat pada unsure lain dalam tanah. Sekitar 90-95 % unsur P di dalam tanah terdapat dalam bentuk P tidak larut, sehingga tidak dapat digunakan oleh tanaman (Vassileva et al. 2001). Pupuk POH Mix yang diberikan ternyata membuat nilai

PMEase, P tersedia tertinggi pada tanah marginal bekas tanaman bambu dibandingkan dengan pupuk kimia dan kompos, yaitu: 0,95 mg/g dan 0,039 ug/p nitrofenol/g/jam. Hal ini kemungkinan bakteri yang termasuk dalam PGPR lebih unggul dari bakteri setempat (indigenous), sehingga dapat melarutkan P terikat lebih banyak daripada bakteri setempat. Reyes et al. (1999) mengatakan bahwa pelarutan fosfor merupakan suatu proses kompleks yang dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti kelimpahan hara, fisiologi dan status pertumbuhan dari bakteri. Enzim PMEase merubah P organik menjadi P tersedia kalo produksi enzim bakteri tinggi secara teori bakteri akan melarutkan P lebih banyak.

Uji efektivitas PGPR di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai

Parameter hasil panen kedelai per 10 pohon dapat dibaca pada Tabel 4 dan hasil panen kedelai per petak dapat dibaca pada Tabel 5.

Hasilnya penelitian bervariasi dan berbeda-beda disetiap penelitian lainnya. Hasil dari penelitian ini (lahan

sempit) dapat dikonversikan ke hasil dari penelitian dengan lahan yang luas. Seperti penelitian sebelumnya tentang cara untuk meningkatkan produksi kedelai di lahan marginal yang dilakukan Arsyad (2004), Rumbaina et al. (2004), dan Taufiq et al. (2004) hasilnya berbeda-beda serta menurut Sudaryono et al. (2007), hasil dilapangan tidak selalu menunjukkan sinergisme positif dan bersifat linier dengan peningkatan hasil.

Hasil panen pada penelitian ini menunjukkan, bahwa tanaman yang diberi POH AZOFOR1 dan AZOFOR2 pada semua para meter yang diukur menunjukkan hasil lebih tinggi dari tanaman yang diberi pupuk AZOFOS dan tanaman yang diberi POH AZOFOS hasilnya lebih tinggi dari tanaman yang diberi pupuk kimia, pupuk kompos dan tanpa diberi pupuk (kontrol). Hasil panen tertinggi diperoleh dari tanaman yang diberi POH Mix yaitu 480 g/10 pohon (berat tanaman); 129 jumlah bintil/10 pohon (jumlah bintil akar); 229,40 g/10 pohon (berat polong); 152 buah/10 pohon (jumlah polong); dan 130,5 g/10 pohon (berat biji); 3040 g/petak (berat polong); 1840 g/petak (berat biji); 1200 g/petak (berat kulit); dan 7,7 kg/petak (berat brangkasan).

Efektivitas bakteri penambat nitrogen pada pertumbuhan tanaman kedelai lebih unggul dibandingkan bakteri pelarut fosfat dan pupuk lainnya serta kontrol. Terlihat bahwa bakteri *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, *Rhizobium* sp.3, *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. anthiana* *Azotobacter* sp., dan *Azospirillum* sp yang terdapat pada POH AZOFOR 1 dan 2, berkolaborasi (bersimbiosis dan berasosiasi) lebih baik dengan tanaman inang (kedelai) dari pada bakteri pelarut fosfat (*Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. Pantothenicus*) dalam POH AZOFOS yang diberikan maupun bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat indigenus. Hal ini terlihat efektivitas bakteri tersebut dalam pembentukan bintil akar yang merupakan hasil penambatan N bebas dari udara. Pembentukan bintil akar tanaman kedelai yang dipupuk dengan AZOFOR 1 dan 2 lebih banyak dan dibandingkan dari tanaman kedelai yang dipupuk lainnya, termasuk pada tanaman kontrol yang diinfeksi bakteri indigenus). Efektivitas bakteri memacu tanaman kedelai untuk mengoptimalkan nodulasi sehingga 60 % kebutuhan nitrogen tanaman akan terpenuhi dari penambatan N dalam tanah dan udara (Nambiar dan Dart 1980). Pada hasil penelitian Jordan (1982), melaporkan bahwa bakteri *Rhizobium* yang dapat menodulasi tanaman kedelai secara efektif, dikenal sebagai *Bradyrhizobium japonicum* dan *Bacillus*, *Azotobacter*, dan *Azospirillum*, juga telah terbukti mampu melakukan fiksasi N₂ dengan terbentuknya bintil akar pada tanaman legum. Kemudian Alexander (1977) mengemukakan bahwa *Azotobacter* dan *Azospirillum* merupakan bakteri fiksasi N₂ yang mampu menghasilkan substansi zat pemacu tumbuh asam indol asetat untuk memacu pertumbuhan akar. Sedangkan *Azotobacter* yang diinokulasikan pada tanah akan memersubur tanah, karena populasi bakteri tersebut akan terus bertambah banyak dan efektif menambat N, sehingga biomassa tanaman akan naik (Hindersah dan Simarmata 2004). Jadi jelas apabila bakteri efektif akan membuat

pertumbuhan akar menjadi baik baik dan pembentukan bintil semakin banyak, maka pertumbuhan dan hasil produksi kedelainya akan baik.

Hasil rata-rata produksi kedelai tertinggi dihasilkan oleh tanaman yang diberi POH Mix yaitu sebesar 1840 g dan terendah diperoleh dari tanaman kontrol (130 g). Hal ini terjadi karena penyerapan unsur hara yang disediakan oleh BPN dan BPS didaerah perakaran efektif. Hasanudin (2003) mengemukakan bahwa bakteri yang terdapat di perakaran tanaman dapat meningkatkan kapasitas akar dalam menyerap nutrisi di tanah bereaksi masam (pH tanah = 5,8) serta dilaporkan oleh Sumarno dan Manshuri (2007), bahwa tanaman kedelai toleran terhadap kejenuhan AL sebesar 20 %.

Jadi dari penelitian ini dapat disimpulkan, bahwa bakteri hasil isolasi dari bintil akar dan rizosfir akar teridentifikasi sebagai *Bradyrhizobium japonicum*, *Rhizobium* sp.1, *Rhizobium* sp.2, *Rhizobium* sp.3 (diisolasi dari bintil akar kedelai), *Rhizobium leguminosarum*, *Burkholderia cepacea*, *B. cenospacea*, *B. anthiana* (diisolasi dari rizosfir tanaman kedelai), *Bacillus cereus*, *B. thuringiensis*, *B. megaterium*, *B. Pantothenicus*, *Azotobacter* sp., dan *Azospirillum* sp. (diisolasi dari Gn Susu, Wamena, Papua). Seluruh bakteri mampu memproduksi IAA, enzim PMEase, dan P tersedia pada inokulan cair sehingga disebut PGPR. Efektivitas PGPR tertinggi dihasilkan oleh PGPR yang terkandung dalam POH Mix (14 isolat), karena dapat menaikkan kesuburan tanah dengan meningkatkan populasi bakteri biofertilizer, meningkat pembentukan bintil akar, menaikkan pH tanah, serta berdampak positif pada pertumbuhan dan produksi kedelai di tanah marginal.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terima Kasih disampaikan kepada proyek PN 5 yang membiayai penelitian ini dan kepada sdr Etty suryati, Ana Rahmawati dan sdr Engkos Kpswara yang membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbari GhA, Arab SM, Alikhani HA, Allahdadi I, Arzaneh MH. 2007. Isolation and selection of indigenous *Azospirillum* spp. and IAA of superior strain on wheat roots. *World J Agric Sci* 3: 523-529.
- Alexander M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. 2nd ed. John Wiley and Sons, New York.
- Allen SE. 1974. *Chemical Analysis of Ecological Materials*. Blackwell Scientific Publications, Oxford.
- Anderson JPE. 1982. Soil respiration. In: Page AL, Miller RH, Keeney DR (eds). *Methods of soil analysis: Part 2, chemical and microbiological properties*. American Society of Agronomy-SSSA. Madison, Wisconsin.
- Arsyad DM. 2004. Varietas kedelai toleran lahan kering masam. *Makalah Lokakarya Pengembangan Kedelai melalui Pendekatan Pengelolaan Tanaman Terpadu di Lahan Masam*. BPTP Lampung, 41-47. 30 September 2004.
- Baldani JI, Caruso Vera L, Baldani LD, Silvia R Goi, and Dobreiner J. 1997. Recent advance in BNF with non-legume plants. *Soil Biol Biochem* 29 (5/6): 911-922.

- Baldani VLD, Dobereiner J. 1980. Host-plant specificity in the infection of cereals with *Azospirillum* spp. *Soil Biology Biochemistry* 12: 433-439
- Biswas JC, Ladha JK, Dazzo FB. 2000. Rhizobial inoculation improves nutrient uptake and growth of lowland rice. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1644-1650
- Caceres EAR. 1982. Improved medium for isolation of *Azospirillum* spp. *Applied and Environmental Microbiology* 44: 990-991.
- Gaur AC. 1981. Phospho-microorganism and varians transformation. In: *Compost Technology, Project Field Document No. 13* FAO. 106-111.
- Gholami A, Shahsavani S, Nezarat S. 2009. The effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) on germination, seedling growth and yield of maize. *Intl Schol Sci Res Innov* 3(1): 9-14.
- Gravel V, Antoun H, Tweddell RJ. 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biol Biochem* 39: 1968-1977.
- Gusnaniar. 2007. Produksi IAA oleh *Rhizobium* spp, *Pseudomonas* spp, dan *Azobacter* sp dalam medium sintetik dan serum lateks *Hevea brasiliensis* Muel. Arg dengan suplementasi triptofan. [Skripsi S1]. Fakultas Biologi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta.
- Hartono A. 2000. Pengaruh pupuk fosfor, bahan organik, dan kapur terhadap pertumbuhan jerapan P pada tanah masam latosol Darmaga. *Gakuryoku* 6 (1): 73-78.
- Hasanudin. 2003. Peningkatan ketersediaan dan serapan N dan P serta hasil tanaman jagung melalui inokulasi mikoriza, *Azotobacter*, dan bahan organik pada ultisol. *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian Indonesia* 5 (2): 83-89
- Hindersah R, Simarmata T. 2004). Potensi rizobakteri azotobacter dalam meningkatkan kesehatan tanah. *Jurnal Natur Indonesia.* 5 (2): 127-133.
- Jolly SN, Shanta NA, dan Khan ZUM. 2010. Quantification of Heterophilic Bacteria and *Azospirillum* from the Rhizosphere of Taro (*Colocasia esculenta* L. Schott) and the Nitrogen Fixing Potential of Isolated *Azospirillum*, *International Journal of Botany*.
- Jordan DC. 1984. Famili III. Rhizobiaceae conn 1938, 321AL, p. 234-256. In: Krieg NR, Holt JE (eds.). *Bergeys Manual of Systematic Bacteriology*, Vol. 1. The William and Wilkins Co., Baltimore
- Karlen DL, Hurlley EG, Mallarino AP. 2006. Crop rotation on soil quality at three northern corn/soybean belt location. *Agron J* 98: 484-495.
- Kyuma Kazutake. 2004. *Paddy soil science*. Kyoto Univ. Press and Trans Pacific Press. Kyoto.
- Maor R., Haskin S, Levi-Kedmi H, Sharon A. 2004. In planta production of indole-3-acetic acid by *Colletotrichum gloeosporioides* f. sp. *Aeschynomene*. *App Environ Microbiol* 70: 1852-1854.
- Nambiar PTC, Dart PJ. 1980. Studies on nitrogen fixation by groundnut in INCRISAT. *Proceedings of the International Workshop on Groundnuts* 110-124. International Crop Research Institute for the Semi-Aris Tropicals. India.
- Nguyen CWY, Tacon FL, Lapeyrie F. 1992. Genetic viability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) PD Orton. *PI Soil* 143: 193-199.
- Nurosid O, Lestari dan Puji. 2008. Kemampuan *Azospirillum* sp. JG3 dalam Menghasilkan Lipase pada Medium Campuran Dedak dan Onggok dengan Waktu Inkubasi berbeda, Universitas Soedirman, Purwokerto.
- Obaton M. 1977. Effectiveness, Saprofitic and competitive Ability three properties of *Rhizobium* essential for in-cresing the yield of inoculated legumes. In: Ayanaba A, Dart PJ (eds.) *Biological Nitrogen Fixation in Farming Systems of the Tropics*. John Wiley & Sons, New York.
- Ramachandran K, Srinivasan V, Hamza S, Anandaraj M. 2007. Phosphate solubilizing bacteria isolated from the rizosphere soil and its growth on black pepper (*Piper nigrum* L.) cutting. *PI Soil Sci* 102: 325-331.
- Rao S. 1994. *Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman*. Edisi 2. UI Press, Jakarta.
- Reyes I, Valery A, Valduz Z, Velazquez E, Rodriguez-Barrueco C. (eds.). 2007. Phosphate-solubilizing microorganisms isolated from rhizospheric and bulk soils of colonizer plants at an abandoned rock phosphate mine. *First International Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*, 69-75
- Richard JD, Louis Henry J, Louis Henry G. 1984. *Soybeans Crops Production*. 5th Ed. Practice Hall. Inc. Englewood Cliffs. New Jersey.
- Rumbaina D, Amrizal N, Widiyantoro, Marwoto, Taufiq A, Kuntastyuti H, Arsyad DM, Heriyanto. 2004. *Pengelolaan Tanaman Terpadu (PTT) di lahan masam*. Makalah Lokakarya Pengembangan Kedelai melalui Pendekatan Pengelolaan Tanaman Terpadu di Lahan Masam. BPTP Lampung, 30 September 2004. p. 61-72.
- Saraswati R, Sumarsono. 2008. Pemanfaatan mikroba penyubur tanah sebagai komponen teknologi pertanian. *Iptek Tanaman Pangan*, 3(1): xx.
- Savin MC, Taylor H, Görres JH, Amador JA. 2000. Seasonal variation in acid phosphatase activity as a function of landscape position and nutrient inputs. *Agron Abst* 92: 391
- Seshadri S, Ignacimuthu S, Lakshminarsimhan C. 2002. Variations in heterotrophic and phosphatesolubilizing bacteria from Chennai, southeast coast of India. *Indian J Mar Sci* 31: 69-72.
- Subikse IGM. 2006. Pemanfaatan jerami sebagai penyedia hara dan pembenah tanah pada lahan tadah hujan marginal di kabupaten Blera Jawa Tengah. Laporan akhir kerja sama penelitian Balai Penelitian Tanah-Program Peningkatan Pendapatan Petani Melalui Inovasi (P4MI). Balai Besar Litbang Sumber Daya Lahan Pertanian, Bogor.
- Sudaryono A, Wijanarko, Prihastuti, Sutarno. 2007. Analisis factor pembatas pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai di lahan kering masam. *Agritek* 15 (4): 783-789.
- Vassileva M, Vassilev N, Venice M, Federici F. 2001. Immobilized cell technology applied in solubilization of insoluble inorganic (rock) phosphate and P plant acquisition. *Bioresource Technol.* 79: 263-271.
- Vincent JM. 1982. *Nitrogen Fixation in Legume*. Academic Press, London.
- Widawati S, Muharam A. 2012. Uji laboratorium *Azospirillum* sp. yang diisolasi dari beberapa ekosistem. *J Hortikultura* 22 (3): 258-267.
- Widawati, S. 2012. The Use of Plant Growth Promoting Rizobacteria (*Pseudomonas Fluorescens* and *Serratia Marcescens*) For Paddy Growth in High Salinity Ecosystem. *Seminar Nasional Biodiversitas IV*, 15 September 2012. Universitas Airlangga, Surabaya
- Widawati. 2014. The effect of salinity to activity and effectivity phosphate solubilizing bacteria on growth and production of paddy. *Proceeding International Conference on Biological Science*, Faculty of Biology, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Woo PCY, Lau SKP, Teng JLL, Tse H, Yuen KY. 2008. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Micobiol Infect* 14: 908-934