

09012015
208/F-P/2015 ✓

Bidang Ilmu :PERTANIAN

LAPORAN AKHIR PENELITIAN

HIBAH BERSAING



**PENGEMBANGAN ISOLAT RHIZOBAKTERI *INDIGENOUS* MERAPI
SEBAGAI PUPUK HAYATI UNTUK MENINGKATKAN
PRODUKTIVITAS PADI LAHAN KERING**

TIM PENGUSUL

Ketua : Ir. Agung Astuti, MSi, NIDN : 0523096201
Anggota : Ir. Sarjiyah, MS, NIDN : 001809196102
Ir. Hariyono, MP, NIDN : 0030036501

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA

Nopember, 2013

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH YOGYAKARTA	
Diteliti tgl. :	
Inv / Proj. :	
Klasifikasi :	
Anal Buku :	Beli / tidak /

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Kegiatan : PENGEMBANGAN ISOLAT RHIZOBAKTERI INDIGENOUS MERAPI SEBAGAI PUPUK HAYATI UNTUK MENINGKATKAN PRODUKTIVITAS PADI LAHAN KERING

Peneliti / Pelaksana

Nama Lengkap : AGUNG ASTUTI

NIDN : 0523096201

Jabatan Fungsional :

Program Studi : Agroteknologi

Nomor HP : 0811257673

Surel (e-mail) : agung_astuti@yahoo.com

Institusi Mitra (jika ada)

Nama Institusi Mitra :

Alamat :

Penanggung Jawab :

Tahun Pelaksanaan : Tahun ke 1 dari rencana 2 tahun


Biaya Tahun Berjalan : Rp. 30.000.000,00


Biaya Keseluruhan : Rp. 99.250.000,00

Mengetahui
Dekan Fakultas Pertanian UMY

Yogyakarta, 23 - 11 - 2013,
Ketua Peneliti,




(AGUNG ASTUTI)
NIP/NIK 133017


Menyetujui,
Ketua LPM UMY
Hilman Latief, MA, PhD)
NIP/NIK 113033

A. LAPORAN HASIL PENELITIAN

ABSTRAK

Rhizobacteri indigenus Merapi yang telah dikarakterisasi sebagai isolat MA, Mb dan MD tahan terhadap cekaman osmotik hingga $> 2,75$ M NaCl. Isolat MD lebih kuat melarutkan Phosphat dibanding isolat MA dan MB, namun isolat MA dan MB kemampuan Nitrifikasinya sangat kuat dan mampu Amonifikasi daripada isolat MD. Isolat *Rizhobakteri indegenous* Merapi mampu berkembang di rhizosfer tanaman padi dalam cekaman kekeringan, meskipun perlu adaptasi hingga minggu ke 3 dan populasi campuran isolat MA-MB-MD tertinggi ($76,68 \times 10^9$ cfu/ml), namun dipengaruhi kadar lengasnya. Tanaman padi dalam kondisi cekaman air (KL 40 %) nyata berpengaruh lebih baik terhadap semua parameter pertumbuhan tanaman padi. Saling pengaruh antara perlakuan campuran isolat MA-MB-MD dengan frekuensi penyiraman tampak pada indikator pertumbuhan tanaman padi (akar dan tajuk), namun belum berpengaruh sampai ke hasil padi. Frekuensi penyiraman 1 hari sekali tanpa inokulasi, pengaruhnya sama dengan inokulasi isolat MB-MD penyiraman 3 hari sekali, bahkan 6 hari sekali dengan inokulasi campuran isolat MA-MB-MD. Diharapkan formulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi dapat digunakan sebagai pupuk hayati untuk meningkatkan toleransi tanaman padi terhadap cekaman kekeringan.

ABSTRACT

Rhizobacteri indigenus Merapi Isolates have been characterization, and MA, MB, and MD isolate could withstand osmotic stress up to >2.75 M NaCl. MD isolate was stronger in dissolving Phosphate than MA and MB isolate, but MA and MB isolate had much stronger Nitrification capability and could perform ammonification than MD isolate. Rhizobacteri indigenus Merapi could grow in rice plant rhizosphere in drought stress, despite the need to adapt until the 3rd week and highest mix of MA-MB-MD isolate (76.68×10^9 cfu/ml), although it depends on the moisture degree. Rice plant in water stress (KL 40%) clearly better influence against all rice plant growth parameter. There is reciprocal influence between the mix of MA-MB-MD isolate treatment and watering frequency which shows in rice plant growth indicator (root and crown), but still no effect on rice product.. The effect of once per day watering without inoculation was the same with MB-MD inoculation isolate with once per three days watering, even with once per 6 days watering with MA-MB-MD mix isolate inoculation. It is expected that the formulation of Rhizobacteri Indigenus Merapi could be utilized

RINGKASAN

Dalam penelitian ini dikaji karakterisasi dan inokulasi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi sebagai pupuk hayati, baik di pot dan aplikasi di lapangan, sehingga dapat meningkatkan toleransi tanaman padi pada cekaman kekeringan.

Penelitian tahap 1 mengkarakterisasi isolat dan Uji potensi *Rhizobacteri indigenus* Merapi sebagai pupuk hayati serta Uji kompatibilitas pada tanaman padi di tanah pasir Merapi (Faktorial 3x4) disusun dalam RAKL. Faktor 1 intensitas penyiraman : siram 1x/hr, siram 2x/hr, siram 3x/hr. Faktor 2 inokulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi : tanpa inokulum, inokulum MB-MD, inokulum MA-MB-MD. Tahap 2 adalah Uji ketahanan *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap cekaman kekeringan dengan perlakuan Kadar Lengas pada tanaman padi (Faktorial 4x3) disusun dalam RAKL. Faktor 1 kadar lengas : KL 100%, KL 80%, KL 60%, KL 0%. Faktor 2 inokulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi : tanpa inokulum, inokulum campuran MB-MD, inokulum campuran MA-MB-MD. Tahap 3 melakukan pengujian lapangan terhadap cekaman kekeringan dengan perlakuan frekuensi penyiraman pada tanaman Padi (Faktorial 3x3) disusun dalam RAKL. Faktor 1 frekuensi penyiraman : setiap hari, setiap 3 hari, setiap 6 hari. Faktor 2 inokulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi : tanpa inokulum, inokulum campuran MB-MD, inokulum campuran MA-MB-MD.

Hasil menunjukkan bahwa karakteristik koloni dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi ada perbedaan yaitu isolat MB dan MC berbentuk *Circular-Entire* berwarna putih kecuali isolat MA (*Curled*-putih dengan tepi *Undulate*) dan isolat MC (*Ramose*-kuning dengan tepi *Filamentous*) serta diameter koloni isolat MD paling besar (1,5 mm). Sedang karakteristik selnya sama, sifat gram negatif dan bentuk batang, kecuali isolat MD (*Coccus*). Dari sifat fisiologi semua bersifat aerob dan fermentatif, namun isolat MD sangat kuat menghidrolisis pati. Tipe pertumbuhannya adalah *fast growing* yang mencapai fase log selama 48 jam dan setelah itu mulai menurun jumlah koloninya. Isolat MA, MB dan MD tahan terhadap cekaman osmotik hingga $> 2,75$ M NaCl. Isolat MD lebih kuat melarutkan Phosphat dibanding isolat MA dan MB, namun isolat MA dan MB kemampuan Nitrifikasinya sangat kuat dan mampu Amonifikasi daripada isolat MD. Isolat *Rizhobakteri indegenus* Merapi mampu berkembang di rhizosfer tanaman padi dalam cekaman kekeringan, meskipun perlu adaptasi hingga minggu ke 3 dan populasi campuran isolat MA-MB-MD tertinggi ($76,68 \times 10^9$ cfu/ml), namun dipengaruhi kadar lengasnya. Tanaman padi dalam kondisi cekaman air (KL 40 %) nyata berpengaruh lebih baik terhadap semua parameter pertumbuhan tanaman padi. Ada saling pengaruh antara perlakuan campuran isolat MA-MB-MD dengan frekuensi penyiraman tampak pada indikator pertumbuhan tanaman padi (akar dan tajuk), namun belum berpengaruh sampai ke hasil padi. Frekuensi penyiraman 1 hari sekali tanpa inokulasi, pengaruhnya sama dengan inokulasi isolat MB-MD penyiraman 3 hari sekali, bahkan 6 hari sekali dengan inokulasi campuran isolat MA-MB-MD.

Untuk mengembangkan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi sebagai pupuk hayati yang dapat meningkatkan toleransi tanaman padi terhadap cekaman kekeringan, maka perlu dilakukan identifikasi sampai tingkat molekular melalui amplifikasi PCR dan analisis 16sDNA *Squensing* dan perlu dikaji inokulasi pada berbagai varietas tanaman padi, bentuk formulasi, metode aplikasi yang tepat serta

SUMMARY

This research studied about *Rhizobacteri Indigenus Merapi* isolate as characterization, as well as inoculation in the pot and field application as bio fertilizer, its expected to increase riceplant tolerance against the stress of drought.

The first phase of the research is Isolate characterization and examination of *Rhizobacter Indigenus* potential as bio fertilizer as well as compatibility test of *Rhizobacter Indigenus Merapi* to rice plant on Merapi sand (3X4 Factorial) arranged in RAKL. The first factor-Watering intensity : once/day watering, twice/day watering, three times/day watering. Second factor-*Rhizobacteri Indigenus Merapi* inoculation : no inoculum, inoculum MB-MD, inoculum MA-MB-MD. Second phase of the research involves *Rhizobacteri Indigenus Merapi* robustness test against drought stress with Moisture Degree - Kadar Lengas (KL) - treatment to rice plant (Factorial 4X3) arranged in RAKL. First factor-Moisture degree : KL 100%, KL 80%, KL 60%, KL 0%. Second factor-*Rhizobacteri Indigenus Merapi* inoculation : no inoculum, mix of MB-MD inoculum, mix of MA-MB-MD inoculum. Third phase exercise field tests against drought with watering frequency treatment to rice plant (3X3 Factorial) arranged in RAKL. First factor-Watering Frequency : every day, every 3 days, every 6 days. Second factor-*Rhizobacteri Indigenus Merapi* inoculation : no inoculum, mix of MB-MD inoculum, mix of MA-MB-MD inoculum.

Results show that there is a difference in colonial characteristic of four *Rhizobacteri indigenus Merapi* isolate where MB and MC isolate (white Circular-Entire shape), except for MA isolate (Curled-white with Undulate edge) and MD isolate (Ramosse-yellow with Filamentous edge) and also that MD isolate have the biggest diameter (1,5 mm). Cell characteristics, however, were the same, gram-negative and were rod shaped, except for MD isolate (coccus). All showed aerob and fermentative characteristic, although MD isolate very strongly hydrolyze starchs. The growth type is fast growing which reach log phase for 48 hours and then the number of colony decrease. MA, MB, and MD isolate could withstand osmotic stress up to >2.75 M NaC. MD isolate was stronger in dissolving Phospate than MA and MB isolate, but MA and MB isolate had much stronger Nitrification capability and could perform ammonification than MD isolate. *Rhizobacteri Indigenus Merapi* could grow in rice plant rhizosphere in drought stress, despite the need to adapt until the 3rd week and highest mix of MA-MB-MD isolate (76.68×10^9 cfu/ml), although it depends on the moisture degree. Rice plant in water stress (KL 40%) clearly better influence against all rice plant growth parameter. There is reciprocal influence between the mix of MA-MB-MD isolate treatment and watering frequency which shows in rice plant growth indicator (root and crown), but still no effect on rice product.. The effect of once per day watering without inoculation was the same with MB-MD inoculation isolate with once per three days watering, even with once per 6 days watering with MA-MB-MD mix isolate inoculation.

As expected that the formulation of *Rhizobacteri Indigenus Merapi* could be utilized as bio fertilizer to increase rice plant tolerance against the stress of drought, there is a need for identification to molecular level through PCR amplification and 16sDNA Sequencing analysis. It is necessary to study inoculation to several variety of rice plants and formulation methods as well as the correct application method, also there

PRAKATA

Puji syukur kami panjatkan ke hadirat Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan barokahNya, setelah melalui kegiatan penelitian yang cukup intensif, kami dapat menyusun laporan penelitian yang dibiayai oleh dana Hibah Bersaing Tahun 1 Direktorat Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional tahun 2013.

Penelitian dilakukan di laboratorium Bioteknologi, Green House dan di lahan percobaan, pada bulan Mei sampai dengan Nopember 2013.

Kami menyadari bahwa penelitian ini dapat terlaksana dengan baik, berkat bantuan dan kerjasama dari berbagai pihak. Kami mengucapkan terima kasih kepada Direktorat Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional, atas kepercayaan yang telah diberikan kepada kami untuk melakukan penelitian dengan dana Hibah Bersaing Tahun 1. Terima kasih juga kami sampaikan kepada Lembaga Penelitian UMY, segenap Civitas Akademika Fakultas Pertanian UMY yang telah membantu dalam proses pengusulan proposal, memberikan dukungan moril dan fasilitas penelitian di UMY. Tak lupa kami sampaikan ucapan terima kasih kepada mbak Marsih, mas Rudy dan pak Sukir yang telah membantu pelaksanaan penelitian di laboratorium, Green House maupun di lahan percobaan. Kepada suami dan putra-putri kami yang telah memberikan do'a, dukungan dan semangat dalam menjalankan penelitian ini, kami berikan penghargaan yang tiada terkira.

Semoga penelitian bermanfaat, khususnya untuk penelitian lanjutan yaitu karakterisasi pada aras molekular, inokulasi pada berbagai varietas tanaman padi, bentuk formulasi, metode aplikasi yang tepat serta penelitian pada berbagai lahan marjinal dengan keterbatasan air. Dan jangka panjang dapat memproduksi pupuk hayati dari isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang dapat meningkatkan

DAFTAR ISI

	Halaman	
HALAMAN PENGESAHAN	ii	
A. LAPORAN HASIL PENELITIAN		
ABSTRAK	iii	
ABSTRACT	iii	
RINGKASAN	iv	
SUMMARY	v	
PRAKATA	vi	
DAFTAR ISI	vii	
DAFTAR TABEL	viii	
DAFTAR GAMBAR	ix	
DAFTAR LAMPIRAN	x	
BAB I. PENDAHULUAN		
A. Latar Belakang	1	
B. Permasalahan	1	
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA		
A. <i>Rhizobacteri</i>	2	
B. Asosiasi <i>Rhizobacteri</i> Pada Tanaman	2	
C. Studi Pendahuluan dan <i>Roadmap</i> tentang Isolat <i>Rhizobacteri</i> <i>indigenus</i> Merapi	3	
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN		
A. Tujuan Penelitian	4	
B. Manfaat Penelitian	4	
C. Keutamaan Penelitian	4	
BAB IV. METODE PENELITIAN		
A. Rancangan Percobaan dan Parameter	5	
B. Analisis data	7	
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN		
A. Isolasi dan Karakterisasi Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi	8	
B. Uji Potensi Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi sebagai Pupuk hayati	11	
C. Uji Kompatibilitas Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi pada tanaman padi di tanah pasir Merapi	14	
D. Uji Ketahanan Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi Terhadap Cekaman Kekeringan dengan perlakuan Kadar Lengas pada tanaman Padi	15	
E. Uji Ketahanan Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi terhadap Cekaman Kekeringan dengan perlakuan Frekuensi Penyiraman pada tanaman Padi	18	
BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN		22
DAFTAR PUSTAKA	24	
I AMBIDANI I AMBIDANI	26	

DAFTAR TABEL

Tabel :	halaman
1. Warna & Diameter Koloni Isolat <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi	8
2. Karakterisasi Koloni Isolat <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi	9
3. Karakterisasi Sel Isolat <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi	9
4. sifat fisiologi isolat <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi	10
5. Hasil uji Potensi Isolat <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi terhadap kemampuan sebagai Pupuk hayati	12
6. Rerata jumlah <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi dan parameter pertumbuhan pada uji kompatibilitas dengan bibit Padi	15
7. Rerata parameter Pertumbuhan Tanaman Padi yang diinokulasi <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi dan cekaman kekeringan dengan Kadar Lengas	16
8. Rerata parameter Hasil Tanaman Padi yang diinokulasi <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi dan cekaman kekeringan dengan Kadar Lengas	17
9. Rerata Parameter Pertumbuhan Tanaman Padi yang diinokulasi <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi dan Frekuensi penyiraman	19
10. Rerata Parameter Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi yang diinokulasi <i>Rhizobacteri indigenous</i> Merapi dan Frekuensi penyiraman	20

DAFTAR GAMBAR

Gambar :	halaman
1. Isolat <i>Rhizobacteri</i> MA, MB, MC dan MD	8
2. Pertumbuhan Isolat <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi ($\times 10^7$ cfu/ml)	11
3. Dinamika populasi <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi ($\times 10^7$ cfu/ml)	16
4. Hasil malai Padi di <i>Green House</i>	17
5. Dinamika populasi <i>Rhizobacteri indigenus</i> Merapi ($\times 10^7$ cfu/ml)	18
6. Hasil malai Padi di lahan	20

LAMPIRAN - LAMPIRAN

Lampiran :

- I. Instrumen Penelitian
- II. Personalia Tenaga Peneliti
- III. Target luaran :
 - A. *Bukti Seminar Nasional*
 - B. *Draf naskah publikasi jurnal*
 - C. *Bukti.TTG : sosialisasi ke patani*

I. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Erupsi gunung Merapi telah mengakibatkan berbagai macam kerusakan, khususnya pada tanaman padi sejumlah 244 hektar (Kholis, 2010). Pasca erupsi Merapi terjadi banjir lahar dingin yang semakin meluas, di Magelang ada 32 hektar sawah mengalami kerusakan berat. Dalam jangka panjang tentu akan berakibat pada kurangnya pasokan pangan.

Material piroklastik hasil erupsi gunung Merapi mengakibatkan kerusakan fisik sumberdaya lahan. Lahar dan awan panas juga menyebabkan kerusakan ekosistem mikroorganisme tanah. Seperti jamur, Mikoriza, *Rhizobacteri*, dapat musnah saat lahan tertutup lava pijar yang sangat panas. Meskipun pada kenyataannya, beberapa hari pasca erupsi Merapi sudah dijumpai tanaman yang mampu hidup sebagai tanaman pioneer. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa, antara lain karena adanya dukungan mikrobial di dalam tanah.

Hasil penelitian Agung-Astuti (2012) diperoleh isolat dari rhizosfer tanaman rumput di lahan pasir vulkanik pasca erupsi Merapi. Isolat tersebut mampu tumbuh pada cekaman NaCl > 2 M. Sedang beberapa penelitian sebelumnya melaporkan bahwa *Rhizobacteri* yang telah diperoleh, tahan terhadap cekaman maksimal 1,8 M (Triwibowo *et al.*, 2003; Ikhwan, 2008). Hal ini berarti isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi tersebut mempunyai kemampuan yang lebih baik dan dapat dimanfaatkan sebagai pupuk hayati, khususnya pada tanaman padi di lahan kering.

B. Permasalahan

Permasalahan yang dihadapi dalam pengembangan inokulum *Rhizobacteri*

BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

A. *Rhizobacteri*

Rhizobacteri yaitu bakteri yang hidup di *rhizosfer* akar dan mampu menghasilkan ZPT atau senyawa osmotoleran sehingga tahan terhadap cekaman kekeringan. Bakteri osmotoleran adalah kelompok mikrobial yang mempunyai mekanisme osmoregulasi di dalam sistem fisiologinya. Osmoregulasi adalah suatu mekanisme adaptasi selular, untuk mencegah bahaya dehidrasi sel, karena ada cekaman osmotik (Chaudhory *et al.*, 2011). Adaptasi untuk menghadapi cekaman osmotik dilakukan dengan tiga macam strategi, yaitu : (1) sintesis osmoprotektan secara *de novo*, (2) mengambil (*uptake*) senyawa osmoprotektan yang ada di lingkungannya, (3) mengubah komposisi dinding sel agar tidak rusak karena cekaman osmotik. Senyawa osmoprotektan adalah senyawa organik dengan berat molekul rendah yang dapat berupa : (1) karbohidrat, (2) poliol atau (3) turunan asam amino (glisin betain, prolin betain, prolin, glutamin betain).

Sebagian besar jasad osmotoleran diketahui mengakumulasi *glisin betain* yang dikenal sebagai senyawa osmoprotektan paling potensial dan paling efisien dalam memberikan tanggapan terhadap cekaman osmotik. Akumulasi *glisin betain* diketahui tidak mempengaruhi aktivitas selular dan tidak menghambat aktivitas enzim sitoplasma. Selain diakumulasi dari luar, beberapa mikrobial diketahui juga mampu mensintesis betain secara *de novo*. Beberapa *Rhizobacteri* diketahui juga mempunyai kemampuan mensintesis *glisin betain*, misalnya *Rhizobium meliloti* (Saharan and Nehra, 2011).

B. Asosiasi *Rhizobacteri* Pada Tanaman

Penggunaan *Rhizobacteria* sebagai pupuk hayati merupakan satu sumbangan bioteknologi dalam usaha peningkatan produktivitas tanaman. Hal tersebut dicapai dengan mobilisasi hara, pelarutan Phosphat, produksi hormon tumbuh, fiksasi Nitrogen atau pengaktifan mekanisme ketahanan cekaman kekeringan. Berbagai isolat dari *Pseudomonas* sp., *Azospirillum* sp., *Azotobacter* sp., *Enterobacter* sp., *Bacillus* sp. dan *Serratia* sp. diketahui berfungsi sebagai pupuk

meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kandungan mineral daun pisang, sedangkan isolat *B. licheniformis* dan *B. pumillus* meningkatkan pertumbuhan bibit tomat dan cabai (Garcia *et al.*, 2004). Inokulasi *Pseudomonas* sp dan *Bacillus* sp meningkatkan berat kering tanaman jagung 7-10 % dibanding kontrol. Inokulasi isolat *Bacillus* sp. pada bibit padi meningkatkan pertumbuhan dan produksi padi hingga 43%, sedangkan inokulasi *P. fluorescens* meningkatkan produksi hingga 100% (Ikhwan, 2008). Untuk itu, pengujian kemampuan *Rhizobacteri indigenous* Merapi perlu dilakukan, jika terbukti efektif maka dapat digunakan sebagai alternatif pupuk hayati (*biofertilizer*) pada budidaya tanaman padi.

C. Studi Pendahuluan dan Roadmap Isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi

Dalam penelitian kami terdahulu telah berhasil diperoleh empat isolat *Rhizobacteri* dari perakaran tanaman rumput pasca erupsi Merapi di Kinahrejo (Agung –Astuti, 2012). Skrining isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi menunjukkan bahwa beberapa diantaranya mampu tumbuh pada cekaman NaCl >2 M. Dari hasil penelitian terdahulu tersebut menunjukkan bahwa *Rhizobacteri* osmotoleran yang diisolasi dari daerah perakaran tanaman rumput di lahan pasir pasca erupsi Merapi mempunyai potensi besar untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai pupuk hayati untuk tanaman padi. Meskipun isolat-isolat tersebut diperoleh dengan pendekatan cekaman osmotik menggunakan NaCl, namun hasil kajian menunjukkan bahwa isolat tersebut dapat digunakan sebagai inokulan dalam kondisi cekaman kekeringan. Hasil penelitian terdahulu tersebut telah memberikan gambaran mengenai potensi *Rhizobacteri* osmotoleran sebagai pupuk hayati bagi pertumbuhan tanaman padi dalam keadaan cekaman kekeringan.

Oleh karena itu menarik untuk dikaji lebih lanjut potensi penggunaan isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi tersebut dalam skala pot maupun lapangan dan dengan menggunakan sistem cekaman kekeringan pada tanaman padi tahan kering. Selain itu juga menarik untuk dikaji produktivitas tanaman padi tahan kering setelah diinokulasi dengan *Rhizobacteri indigenous* Merapi. Kemungkinan penggunaan inokulum campuran untuk lebih meningkatkan dukungannya terhadap pertumbuhan maupun hasil panen juga perlu diteliti.

BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

A. Tujuan

Dalam penelitian ini akan dikaji pengembangan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi, baik di tingkat laboratorium khususnya untuk karakterisasi, maupun inokulasi di pot dan aplikasi di lapangan sebagai pupuk hayati pada tanaman Padi yang mengalami cekaman kekeringan.

B. Manfaat

Diharapkan dengan adanya inokulan *Rhizobacteri indigenus* Merapi maka tanaman padi masih mampu melakukan aktivitas fisiologis secara baik meskipun ada cekaman kekeringan dan mampu berproduksi. Selain itu, diharapkan inokulan *Rhizobacteri indigenus* Merapi juga mampu memberikan sumbangan kepada pertumbuhan tanaman padi. Hasil penelitian tentang inokulan *Rhizobacteri indigenus* Merapi akan di seminarikan, dipublikasi, sebagai bahan ajar dan juga akan diajukan untuk kepentingan pendaftaran paten.

C. Keutamaan Penelitian

Kendala utama yang seringkali dihadapi dalam budidaya padi sawah adalah kebutuhan airnya yang cukup ekstensif. Beberapa kelompok *Rhizobacteri* mempunyai kemampuan menghasilkan senyawa osmoprotektan, yang dalam kondisi ada cekaman maka senyawa osmoprotektan tersebut akan digunakan untuk menjaga keseimbangan tekanan osmotik antara bagian dalam dan luar sel sehingga bahaya dehidrasi dapat dicegah.

Keutamaan penelitian ini adalah mengembangkan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang mampu tumbuh pada cekaman yang lebih tinggi dari penelitiannya sebelumnya (> 2 M NaCl). Hal ini berarti isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi tersebut kemampuannya lebih baik dan dapat dimanfaatkan

BAB IV. METODE PENELITIAN

Metode penelitian tahun I meliputi :

- 1) mengidentifikasi dan karakterisasi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi, menguji potensi sebagai pupuk hayati dan uji kompatibilitas isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap tanaman padi pada tanah pasir Merapi.
- 2) Menguji peranan *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap pertumbuhan tanaman dan hasil padi di *Green House* pada cekaman kadar lengas tanah.
- 3) Kajian inokulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap pertumbuhan tanaman dan hasil padi di lahan pada cekaman kekerangan.

A. Rancangan Percobaan dan Parameter

a. Penelitian Laboratorium dengan melakukan eksperimen yang menggunakan metode Deskriptif, meliputi tiga tahap yaitu **isolasi dan pemurnian, karakterisasi dan penentuan tipe pertumbuhan**. Tahap isolasi *Rhizobacteri* dari rhizosfer tanaman pioner pasca erupsi Merapi dengan metode permukaan dan goresan pada medium NA dan pemurnian. Tahap karakterisasi koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi dengan metode *surface plating* pada medium LB+NaCl. Karakterisasi sel dengan pengecatan gram dari isolat yang ditumbuhkan pada medium LB. Sifat fermentatif dengan inokulasi pada medium pati cair, Sukrosa, Glukosa dalam tabung durham. Aerobisitas dengan inokulasi pada medium LB dalam tabung reaksi. Tahap penentuan tipe pertumbuhan isolat dengan inokulasi *surface plating* pada medium LB+NaCl dan jumlah mikroba dihitung pada hari ke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6.

b. Penelitian Laboratorium dengan melakukan eksperimen yang menggunakan metode Deskriptif, meliputi **tiga pengujian potensi pupuk hayati**, yaitu: (1) ketahanan terhadap tekanan osmotik (*osmotoleran*) dengan mengamati pertumbuhan isolat pada medium LBA menggunakan metode *streak plate*, yang ditingkatkan konsentrasi NaCl 0,50 M – 2,75 M hingga isolat tidak mampu tumbuh lagi. (2) Kemampuan melarutkan Phosphat duji dengan metode *streak plate* pada medium PA yang mengandung 0,5 % $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ sebagai sumber P.

adanya pelatutan Phosphat. (3) Kemampuan Fiksasi Nitrogen diuji dengan pertumbuhan pada medium bebas N yaitu Nfb. Untuk kemampuan mereduksi Nitrat diuji dengan menumbuhkan isolat pada medium Nitrat Cair, kemudian mengamati terbentuknya warna merah setelah ditambah asam Sulfanilat dan Napthylamin. Sedang kemampuan Amonifikasi ditunjukkan dengan terbentuknya gas Amonia yang diamati dengan adanya perubahan kertas Lakmus pada saat terbentuk gas Amonia dari pemanasan medium Nitrat Cair yang sudah ada pertumbuhan isolatnya.

c. Penelitian di *Green House* dengan melakukan eksperimen untuk menguji **kompatibilitas isolat *Rhizobacteri indigenous Merapi* pada tanaman padi di tanah pasir Merapi**. Penelitian disusun dalam RAKL dengan Rancangan Percobaan Faktorial (3x4), Faktor 1 adalah intensitas penyiraman terdiri dari 3 aras yaitu : (S1) siram 1x/hr, (S2) siram 2x/hr, (S3) siram 3x/hr. Faktor 2 adalah inokulasi *Rhizobacteri osmotoleran indigenous vulkanik Merapi* terdiri dari 4 aras yaitu : (IMo)tanpa inokulum, (IMA)inokulum MA, (IMB)inokulum MB, (IMD) inokulum MD. Setiap perlakuan diulang 3 kali, sehingga ada 36 pot @ 2 kg.

d. Penelitian di *Green House* dengan melakukan eksperimen untuk Uji ketahanan isolat *Rhizobacteri osmotoleran indigenous vulkanik Merapi* terhadap cekaman kekeringan dengan perlakuan Kadar Lengas pada tanaman padi. Penelitian disusun dalam RAKL dengan Rancangan Percobaan Faktorial (4x3),. Faktor 1 adalah kadar lengas terdiri dari 4 aras yaitu : (K100) KL 100%, (K80) KL 80%, (K60) KL 60%, (K40) KL 0%. Faktor 2 adalah inokulasi *Rhizobacteri osmotoleran indigenous vulkanik Merapi* terdiri dari 3 aras yaitu : (Io)tanpa inokulum, (IC2)inokulum campuran MB-MD, (IC3)inokulum campuran MA-MB-MD. Setiap perlakuan diulang 3 kali, sehingga ada 36 unit perlakuan. Setiap unit terdiri dari 3 sebagai tanam sampel sehingga total ada 108 pot ditambah 96 tanaman koreksi perlakuan kadar lengas. Peranan *Rhizobacteri* terhadap peningkatan osmotoleransi pada tanaman padi akan diamati sampai tahap generatif, yaitu dengan parameter: perkembangan dinamika populasi dengan metode *plate count* (CFU/ml), viabilitas dengan metode *plate count* (CFU/ml),

dan dengan metode *plate count* (CFU/ml). Masing-masing parameter



agronomisnya meliputi : berat kering tanaman metode oven-penimbangan(g), tinggi tanaman (cm), jumlah anakan, serta produksi tanaman meliputi : jumlah malai per tanaman, berat biji per malai dengan penimbangan (g) dan hasil (gram per tanaman).

e. Penelitian di Lahan dengan melakukan eksperimen untuk **menguji ketahanan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap cekaman kekeringan dengan perlakuan Frekuensi Penyiraman pada tanaman padi**. Penelitian disusun dalam RAKL dengan Rancangan Percobaan Faktorial (3x3). Faktor 1 adalah Frekuensi penyiraman terdiri dari 3 aras yaitu : (F1) setiap 1 hari, (F3) setiap 3 hari, (F6) setiap 6 hari. Faktor 2 adalah inokulasi *Rhizobacteri osmotoleran indigenus vulkanik Merapi* terdiri dari 3 aras yaitu : (Io) tanpa inokulum, (It) inokulum tunggal, (Ic) inokulum campuran. Setiap perlakuan diulang 3 kali, sehingga ada 27 unit perlakuan. Setiap unit ditanam 7x7 tanaman padi dengan jarak tanam 20x20 cm, untuk diamati 5 sebagai tanam sampel, 3 sebagai tanaman korban dan 3x3 tanaman untuk petak hasil. **Parameter** pengamatan meliputi : perkembangan dinamika populasi dengan metode *plate count* (CFU/ml), viabilitas dengan metode *plate count* (CFU/ml) dan menganalisis parameter agronomisnya : berat kering tanaman metode oven-penimbangan(g), tinggi tanaman (cm), jumlah anakan, serta produksi tanaman meliputi : jumlah malai per tanaman, berat biji per malai dengan penimbangan (g) dan hasil (gram per tanaman).

B. Analisis data

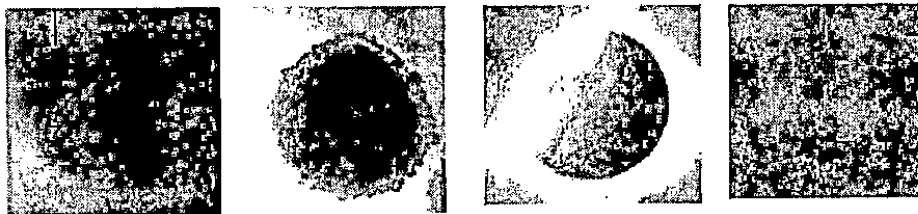
Data hasil pengamatan visual akan dikarakterisasi berdasarkan foto. Sedang data hasil pengamatan periodik akan dianalisis menggunakan grafik. Hasil pengamatan kuantitatif dianalisis dengan menggunakan sidik ragam atau *analysis of variance* pada taraf α 5%. Apabila ada perbedaan nyata antar perlakuan yang

BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi dan Karakterisasi Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

1. Isolasi & pemurnian isolat *Rhizobacteri indigenus* lahan pasir vulkanik Merapi

Untuk mendapatkan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang murni maka dilakukan pemisahan dari lingkungan sekitarnya dengan metode permukaan (*surface plating method*) dan menumbuhkannya sebagai biakan murni menggunakan metode goresan (*streak plating method*) (Jutono dkk., 1980). *Plating* awal yang berasal dari sumber, menghasilkan 8 jenis isolat berbeda berdasarkan bentuk dan warnanya (Agung_Astuti, 2010), yang selanjutnya dilakukan *re-plating*. Hasil yang diperoleh, terdapat beberapa jenis koloni yang masih sama bentuk, warna dan ukurannya sehingga pada *re-plating* kedua diperoleh 4 isolat *Rhizobacteri indigenus*. yang berbeda bentuk, warna, ukurannya, yaitu isolat MA, MB, MC dan MD. Visualisasi isolat pada gambar 1 sedang karakter warna dan diameter koloni pada tabel 1.



(a) Putih serabut (b) Putih (c) Kuning (d) Putih krem

Gambar 1. Isolat *Rhizobacteri* MA, MB, MC dan MD

Tabel 1. Warna & Diameter Koloni Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Warna	Putih serabut	Putih	Kuning	Putih krem
diameter	0,1 cm	0,2 cm	0,1 cm	1,5 cm

Warna koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi berwarna putih-krem dan kuning, dengan diameter koloni berkisar antara 0,1 -0,2 cm. Sedang menurut Holt *et al.* (1994) warna *Rhizobacteri* adalah putih atau putih kekuningan pada medium DYPG dengan ukuran sel 0,9-1,3 x 2,1-2,5 um.

Mikrobia hasil isolasi yang telah tumbuh sebagai koloni tunggal, selanjutnya

.....

diameter koloni, elevasi, bentuk tepi, struktur dalam, warna dan karakterisasi bentuk sel serta sifat gram.

2. Identifikasi Koloni dan Sel *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Determinasi meliputi kegiatan identifikasi dan klasifikasi. Kriteria yang biasanya digunakan dalam mengklasifikasikan bakteri adalah : (1) Karakteristik morfologi meliputi karakteristik sel vegetatif dan sel reproduktif vegetatif (spora), (2) Karakteristik kultur yaitu pertumbuhan medium cair (aerobisitas) dan medium padat (bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi dan struktur dalam), (3) Sifat gram positif atau gram negatif (Pelczar *et al*, 2001). Hasil karakterisasi koloni dan sel isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi Koloni Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk koloni	<i>Curled</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Ramuse</i>
Bentuk tepi	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Filamentous</i>
Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Law Convex</i>	<i>Law Convex</i>	<i>Convex rugose</i>
Struktur dalam	<i>Transparant</i>	<i>Coarsely granular</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Arborescent</i>

Hasil identifikasi diperoleh bentuk koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi adalah *Circular*, *Curled* dan *Ramuse*, dengan bentuk tepi *Entire*, *Undulate*, *Filamentous*. Menurut Holt *et al.* (1994) secara umum *Rhizobacteri* berbentuk datar (*flat*) sampai cembung (*convex*) dan kerucut (*umbonate*). Hal ini sesuai dengan koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang bentuk elevasinya *Convex (law-Rugose)*.

Tabel 3. Karakterisasi Sel Isolat *Rhizobacteri indigenus* lahan pasir vulkanik Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	Batang pendek
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Karakterisasi sel *Rhizobacteri* adalah bakteri gram negatif dengan bentuk batang (*rods*) (Holt *et al.*, 1994). Hal tersebut sesuai dengan sifat gram isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yaitu gram negatif dengan bentuk batang dan

3. Karakterisasi fisiologi Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakteristik fisiologi dilakukan dengan pengujian biokimia seperti penggunaan senyawa karbon sebagai fermentatif dan pengujian biokimia khusus lainnya (Pelczar *et al*, 2001). Hasil pengujian sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada tabel 4.

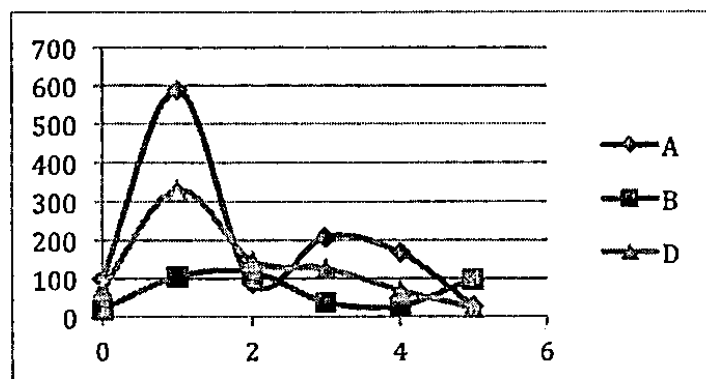
Tabel 4. Sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Pengujian		MA	MB	MC	MD
Aerobisitas		Aerob	Aerob	Aerob	Aerob
Sukrosa	Asam	3+	1+	2+	1+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Glukosa	Asam	2+	1+	1+	2+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Amilum	Hidrolisis	4+	1+	2+	3+

Sifat fisiologi dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi semua bersifat aerob yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan dipermukaan medium LBC pada tabung reaksi. Hal tersebut sesuai dengan sifat *Rhizobacteri* pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) yaitu menghasilkan asam dari glukosa dan menghidrolisis pati, tampak bahwa isolat MA bersifat sangat kuat.

4. Kurve Pertumbuhan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Optimasi inokulum dilakukan untuk mengetahui kurve pertumbuhan isolat dan mengoptimalkan jumlah bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada inokulum yang akan dire-inokulasikan pada tanaman agar jumlah *Rhizobacteri indigenus* Merapi dapat mencukupi dalam menginfeksi akar yang optimal. Syarat untuk dapat menghasilkan inokulum yang optimal untuk *Rhizobacteri indigenus* adalah $10^8 - 10^9$ CFU/ml (Elkan, 1987). Untuk mencapai jumlah sel yang memenuhi maka dilakukan kultur gojog selama 144 jam dan dilakukan perhitungan jumlah sel dengan metode plating setiap 24 jam. Rata-rata jumlah sel



Gambar 2. Pertumbuhan Isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi ($\times 10^7$ cfu/ml)
Keterangan : A. (MA), B (isolat MB), D (isolat MD)

Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa pada kultur gojog 48 jam pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenous* Merapi sudah optimal. Pada masa tersebut bakteri dalam fase akhir *log* yaitu pertumbuhan dengan peningkatan secara eksponensial berlangsung sangat cepat, meskipun setiap isolat berbeda – beda, diduga dipengaruhi oleh tipe pertumbuhan masing – masing isolat. Sedangkan pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenous* Merapi baru mulai fase penurunan setelah 48 jam dan jumlah bakteri terus menurun sampai waktu 72 jam.

B. Uji Potensi Isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi sebagai Pupuk hayati

Di dalam tanah banyak dijumpai bakteri yang bermanfaat untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati, karena mampu membantu menyuburkan tanah sehingga unsur hara menjadi lebih tersedia bagi tanaman, misalnya : menfiksasi Nitrogen, melarutkan Phosphat, membentuk osmoprotektan yang bermanfaat untuk ketahanan terhadap cekaman kekeringan dan menghasilkan ZPT (Subba Rao, 1982; Hartmann *et al.*, 1991). Dari *rhizosfer* rumput yang tumbuh di lahan pasir vulkanik beberapa hari setelah erupsi Merapi, telah diperoleh isolat bakteri yang tahan terhadap cekaman osmotik (Agung_Astuti, 2012). Setelah diuji kemampuan untuk melarutkan Phosphat, Nitrifikasi, Amonifikasi dan ketahanan

... ..

Tabel 5. Hasil uji Potensi Isolat *Rhizobacteri indigenous* lahan pasir vulkanik Merapi terhadap kemampuan sebagai Pupuk hayati

Pengujian	Isolat			
	MA	MB	MC	MD
Stress NaCl :				
0,50 M	3+	3+	3+	5+
1,50 M	3+	3+	-	4+
1,75 M	3+	3+	-	3+
2,00 M	2+	3+	-	2+
2,25 M	2+	2+	-	2+
2,50 M	3+	1+	-	2+
2,75 M	2+	2+	-	2+
Pelarutan P	1+	2+	1+	5+
Fiksasi N	-	-	-	-
Nitrifikasi	3+	4+	1+	2+
Amonifikasi	2+	2+	1+	1+

1. Uji potensi isolat *Rhizobacteri* untuk ketahanan terhadap kekeringan.

Bakteri *osmotoleran* adalah kelompok mikrobia yang mempunyai mekanisme osmoregulasi di dalam sistem fisiologinya yaitu suatu mekanisme adaptasi selular, untuk mencegah bahaya dehidrasi sel, karena ada cekaman osmotik. Untuk menguji isolat tahan terhadap cekaman kekeringan maka dilakukan *plating* pada medium LBA yang ditambahkan stress NaCl dan secara bertahap konsentrasinya dinaikkan, hingga isolat mampu tumbuh pada tekanan osmotik yang tinggi (*osmotoleran*). Hasilnya seperti tersaji pada tabel 5 menunjukkan bahwa isolat MC hanya mampu tumbuh pada cekaman osmotik < 0,50 M. Sedang isolat MA, MB dan MD tahan terhadap cekaman osmotik hingga > 2,75 M NaCl.

Ketahanan terhadap cekaman osmotik isolat *Rhizobacteri* MA, MB dan MD lebih tinggi dari hasil penelitian sebelumnya yaitu isolat *Rhizobakteri osmotoleran* menghasilkan glisin betain tumbuh baik pada kondisi cekaman osmotik >1,8 M NaCl. (Yuwono, 2005). Sedang *Lactobacillus acidophilus* mampu tumbuh pada medium dengan NaCl > 1,0 M (Hartmann *et al*, 1991). *Rhizobacteri* yang hidup di *rhizosfer* akar dan mampu menghasilkan senyawa osmotoleran sehingga tahan terhadap cekaman kekeringan. Hasil penelitian Ikhwan dan Susilo (2003), menerapkan teknologi inokulasi *Rhizobacteri* tahan kekeringan yang bertujuan untuk introduksi dan transfer teknologi pupuk hayati (*Biofertilizer*) yang mampu

jagung. Hal tersebut telah memberikan gambaran mengenai potensi *Rhizobacteri* osmotoleran sebagai pupuk hayati bagi pertumbuhan tanaman dalam cekaman kekeringan seperti di lahan marginal.

2. *Uji potensi isolat Rhizobacteri untuk Pelarutan Phosphat.* Bakteri pelarut Phosphat menghasilkan enzim *Fosfatase* yang dapat meningkatkan pelarutan P di dalam tanah. Untuk menguji isolat terhadap kemampuan pelarutan Phosphat maka dilakukan *plating* pada medium PA yang mengandung $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ 0,5% sebagai sumber P. Apabila terjadi pelarutan Phosphat maka ada zona jernih disekeliling koloni isolat. Hasil uji pelarutan Phosphat isolat *Rhizobacteri* seperti tercantum pada tabel 5, yaitu isolat MD lebih kuat dibanding dengan isolat MA dan MB, sedangkan isolat MC sangat rendah.

Isolat MD ternyata sangat kuat melarutkan Phosphat dan juga sangat tahan terhadap tekanan osmotik ($\text{NaCl} > 2,75 \text{ M}$), berarti isolat MD sangat berpotensi untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati di lahan marginal yang mempunyai kesuburan rendah dan faktor pembatas pada ketersediaan air. Beberapa bakteri pelarut Phosphat yang sudah dikembangkan menjadi pupuk hayati secara komersial antara lain : *Aeromonas punctata*, *Pseudomonas sp*, *Bacillus sp*.

3. *Uji potensi isolat Rhizobacteri untuk Fiksasi N, Nitrifikasi dan Amonifikasi.*

Di dalam tanah unsur Nitrogen terdaur dengan sempurna karena ada bakteri pemfiksasi N udara, bakteri Nitrifikasi dan Amonifikasi. Untuk menguji kemampuan isolat memfiksasi N maka ditumbuhkan pada medium bebas N yaitu medium Nfb. Dari hasil pengujian tampak bahwa semua isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi ternyata tidak tumbuh, berarti isolat tersebut tidak mempunyai *Nitrogenase* sehingga tidak mampu memfiksasi N untuk pertumbuhannya. Namun semua isolat dapat melakukan Nitrifikasi, meskipun isolat MC sangat rendah dan isolat MB sangat kuat, yang ditunjukkan oleh intensitas warna merah setelah kultur Nitrat cair ditambah asam Sulfanilat dan Naphthylamin. Menurut Brock (1997) bakteri Nitrifikan, seperti *Nitrobacter sp.*, *Nitrosomonas sp.*, *Nitrococcus sp.* dapat merombak NH_4^+ menjadi Nitrit (NO_2^-) dan Nitrat (NO_3^-).

Untuk menguji isolat terhadap kemampuan Amonifikasi maka dilakukan pengujian pada pertumbuhan di medium Nitrat Cair yang dipanaskan dan apabila

... ..

Hasil menunjukkan bahwa isolat MA, MB dan MD mampu menghasilkan Amonia, ditunjukkan oleh perubahan warna kertas Lakmus, dengan kemampuan yang hampir sama, sedangkan isolat MC kemampuannya lebih rendah.

Dengan demikian maka isolat MB mempunyai kemampuan yang kuat untuk merombak NH_4^+ hingga Nitrit (NO_2^-) atau Nitrat (NO_3^-) dan juga mampu merombak N organik atau anorganik menjadi Amonia, disamping juga mempunyai ketahanan terhadap tekanan osmotik yang sangat tinggi ($\text{NaCl} > 2,75$ M). Sedangkan isolat MD sangat kuat dalam melarutkan Phosphat, tetapi juga sangat tahan terhadap tekanan osmotik ($\text{NaCl} > 2,75$ M). Lahan marginal memerlukan masukan agar lahan tersebut dapat digunakan untuk budidaya pertanian, maka ke dua isolat tersebut sangat potensial sebagai pupuk hayati. Formulasi pupuk hayati yang menggunakan isolat campuran ternyata lebih bagus dibanding isolat tunggal. Hal tersebut didukung oleh hasil penelitian Yuwono *et al.*, (2005) yang menyatakan bahwa inokulasi *Rhizobacteri osmotoleran* campuran mampu meningkatkan berat kering tajuk, berat kering akar dan jumlah anakan padi pada aras lengas 40%.

C. Uji Kompatibilitas Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada tanaman padi di tanah pasir Merapi

Bakteri bergerombol di sekitar daerah rhizosfera karena adanya gerakan khemotaksis akibat adanya eksudat yang disekresikan oleh akar tanaman. Kolonisasi bakteri di daerah rhizosfera terjadi hubungan simbiosis yang saling menguntungkan, karena *Rhizobacteri* dapat menghasilkan senyawa osmoprotektan yang dapat membantu ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan, Disamping itu ada juga yang dapat menfiksasi N, melarutkan P atau ZPT.

Rhizobacteri indigenus Merapi yang telah berhasil diisolasi dan dikembangkan dalam skala laboratorium, perlu di uji kompatibilitas terhadap tanaman padi di tanah pasir Merapi. Dari perlakuan setelah 1 bulan bibit tanaman padi diinokulasi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi melalui perendaman, maka tampak terbentuk kolonisasi di rhizosfer dan setelah di hitung dengan metode plate count ternyata rata-rata terdapat bakteri sebesar $11,75 \cdot 10^9$ cfu/ml . Hal ini menunjukkan bahwa isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi kompatibel terhadap

MD jumlahnya semakin meningkat pada penyiraman 2 hari sekali. Demikian juga dengan isolat MA, populasi *Rhizobacteri* tertinggi pada penyiraman 3 hari sekali.

Tabel 6. Rerata jumlah *Rhizobacteri indigenous* Merapi dan parameter pertumbuhan pada uji kompatibilitas dengan bibit Padi

Perlakuan	Jumlah <i>Rhizobacteri</i> ($\times 10^7$ CFU/ml)	Tinggi Tanaman (Cm)	Jumlah Daun (helai)	Berat Tanaman (g)
S1MA	78,3	13,2	4,0	0,26
S1MB	48,0	20,5	3,0	0,62
S1MD	112,5	22,5	4,0	0,26
S1MO	88,0	28,6	15,0	2,22
S2MA	63,0	13,5	5,0	0,19
S2MB	161,5	10,5	4,0	0,17
S2MD	765,0	38,5	14,0	1,60
S2MO	63,5	40,5	22,5	3,33
S3MA	320,0	30,1	10,0	1,10
S3MB	46,5	21,0	8,5	0,82
S3MD	14100	29,5	13,5	1,23
S3MO	46,5	31,6	10,0	3,15

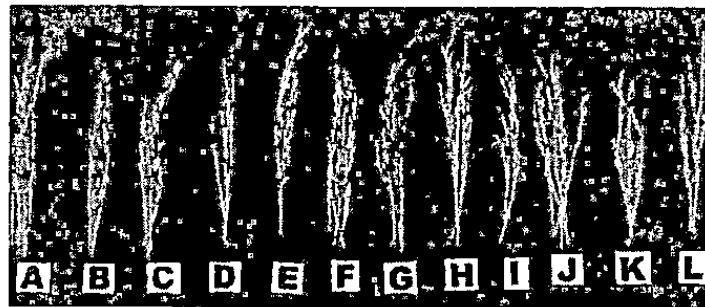
Keterangan :

S1MA = siram sehari 1x + inokulasi isolat MA, S1MD = siram sehari 1x + inokulasi isolat MD
 S1MB = siram sehari 1x + inokulasi isolat MB, S1MO = siram sehari 1x + tanpa inokulasi isolat
 S2MA = siram sehari 1x + inokulasi isolat MA, S2MD = siram sehari 1x + inokulasi isolat MD
 S2MB = siram sehari 1x + inokulasi isolat MB, S2MO = siram sehari 1x + tanpa inokulasi isolat
 S3MA = siram sehari 1x + inokulasi isolat MA, S3MD = siram sehari 1x + inokulasi isolat MD
 S3MB = siram sehari 1x + inokulasi isolat MB, S3MO = siram sehari 1x + tanpa inokulasi isolat

Untuk selanjutnya diteliti beberapa campuran inokulum isolat *Rhizobacteri indigenous* lahan pasir vulkanik Merapi, pengaruhnya terhadap frekuensi penyiraman setiap 1, 3 dan 6 hari sekali di lahan dan pengaruhnya terhadap cekaman kekeringan pada kadar lengas 40%, 60% dan 80%.

D. Uji Ketahanan Isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi terhadap Cekaman Kekeringan dengan perlakuan Kadar Lengas pada tanaman Padi

Dinamika populasi *Rhizobacteri indigenous* Merapi diamati secara periodik dan hasilnya menunjukkan bahwa isolat yang diinokulasikan mampu



Gambar 4. Hasil Malai Padi di *Green House*,

Tabel 8. Rerata parameter Hasil Tanaman Padi yang diinokulasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi dan cekaman kekeringan dengan Kadar Lengas

PERL.	Jumlah Malai	Jumlah Biji/rumpun	Berat 100 biji	Berat Biji/rumpun
Inok:				
I0	4,30 p	186,81 p	1,34 p	2,17 p
IC2	3,58 p	176,78 p	1,51 p	2,37 p
IC3	3,52 p	173,17 p	1,30 p	2,17 p
KL :				
K40	4,74 a	191,63 a	1,10 b	1,88 a
K60	4,51 a	206,04 a	1,14 a	2,71 a
K80	4,03 a	176,74 a	1,52 a	2,35 a
K100	1,93 b	141,26 a	1,49 a	2,01 a
Interaksi	(-)	(-)	(-)	(-)

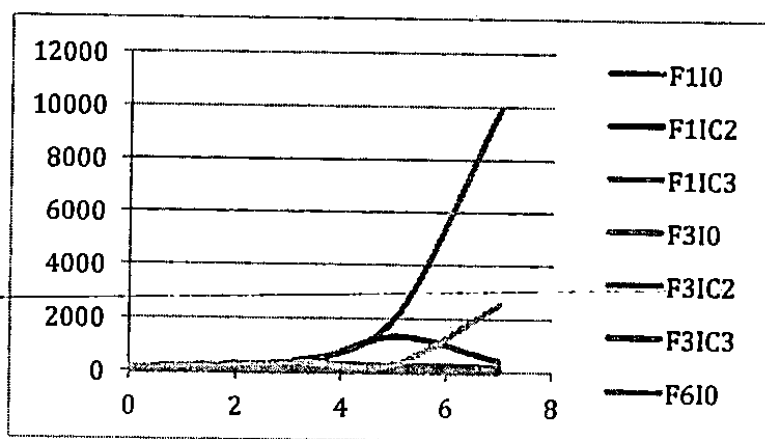
Hasil analisis varian parameter pengamatan pertumbuhan dan hasil padi menunjukkan tidak ada saling pengaruh antara macam isolat *Rizhobakteri indigenus* Merapi dengan kadar lengas media tanam terhadap seluruh parameter pertumbuhan dan hasil tanaman padi. Juga tidak ada pengaruh signifikan dari inokulasi macam isolat *Rizhobakteri indigenus* Merapi terhadap seluruh parameter pertumbuhan dan hasil tanaman padi. Hal ini kemungkinan karena isolat memerlukan masa adaptasi yang cukup lama, yaitu sekitar minggu ke 5, dimana tanaman sudah mulai memasuki masa vegetatif maksimum. Untuk itu perlu diteliti metode aplikasi inokulum yang tepat agar pada saat tanam, populasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi sudah memasuki fase eksponensial.

Kadar lengas media tanam berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman, jumlah anakan, berat segar dan berat kering tajuk, berat segar dan berat kering akar, panjang akar, jumlah malai dan berat 1000 biji. Namun tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah biji dan berat kering biji per rumpun. Tanaman padi dalam

kondisi cekaman air atau lengas tanah 40 % nyata berpengaruh lebih baik terhadap semua parameter pertumbuhan tanaman padi, meskipun hasil padi tidak ada beda nyata dibandingkan dengan kadar lengas tanah 60, 80 maupun 100 %. Hanya saja berat 100 biji (ukuran biji) pada kadar lengas tanah 40 % lebih kecil dibandingkan dengan kadar lengas tanah yang lebih tinggi. Hal ini dikarenakan pada kondisi cekaman kekeringan, akar dirangsang untuk berkembang dan menjangkau air dan unsur hara yang lebih jauh, sehingga akar menjadi lebih panjang maka air dan unsur hara dapat diserap tanaman lebih banyak, oleh karenanya pertumbuhan tanaman lebih baik. Sedangkan pengaruhnya terhadap hasil biji padi (jumlah biji dan berat biji per rumpun) tidak berbeda nyata dengan kadar lengas tanah 60, 80 maupun 100 %, namun berat 100 bijinya lebih kecil.

E. Uji Ketahanan Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi terhadap Cekaman Kekeringan dengan perlakuan Frekuensi Penyiraman pada tanaman Padi

Dinamika populasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi diamati secara periodik dan hasilnya menunjukkan bahwa isolat yang diinokulasikan mampu bertahan selama pertumbuhan.



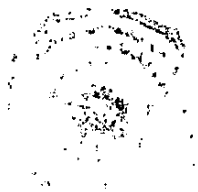
Gambar 5. Dinamika populasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi ($\times 10^7$ cfu/ml)

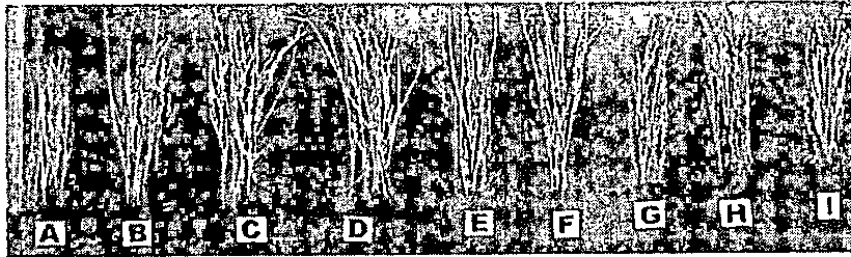
Perkembangan populasi *Rhizobacteri indigenus* Merapi di lahan menunjukkan pola yang sama dengan percobaan di polibag, yaitu *Rhizobacteri*

karena kurang kecocokan antara *Rhizobacteri indigenous* Merapi dengan Varietas bibit padi, sehingga *Rhizobacteri* perlu waktu beradaptasi agak lama agar bisa terbentuk kolonisasi disekitar rhizosfer. Koloni mikrobial yang diinokulasikan di lahan percobaan mengalami perkembangan dengan semakin bertambahnya jumlah koloni mikrobial pada minggu pertama, minggu ketiga, dan minggu kelima. Campuran inokulum MA-MB-MD dengan frekuensi penyiraman 1 hari sekali, memiliki populasi tertinggi. Namun populasinya akan menurun jika frekuensi penyiraman lebih kecil yaitu 6 hari sekali. Pada frekuensi penyiraman 1 hari sekali dan 6 hari sekali perkembangan koloni mikrobial lebih baik daripada frekuensi penyiraman 3 hari sekali. Pada minggu kelima rata-rata jumlah mikrobial dengan frekuensi penyiraman 1 hari sekali mencapai $3307,2 \times 10^7$ cfu/ml, frekuensi penyiraman 3 hari sekali mencapai $70,9 \times 10^7$ cfu/ml, dan frekuensi penyiraman 6 hari sekali mencapai $843,7 \times 10^7$ cfu/ml. Hal ini menunjukkan bahwa kemampuan beradaptasi mikrobial yang diinokulasikan di lahan percobaan mampu bertahan pada tingkat lengas tanah dengan frekuensi penyiraman 6 hari sekali dengan rata-rata lengas tanah 12 %. Hasil analisis parameter pertumbuhan tersaji pada tabel 9 dan hasil pada tabel 10.

Tabel 9. Rerata Parameter Pertumbuhan Tanaman Padi yang diinokulasi *Rhizobacteri indigenous* Merapi dan Frekuensi penyiraman

Perlakuan	Berat Segar Tajuk	Berat Kering Tajuk	Berat Segar Akar	Berat kering akar	Panjang akar
F1I0	35,92 a	8,77 a	12,70 a	4,65 a	14,40 ab
F1IC2	23,63 abc	5,40 abcd	6,12 b	1,72 b	15,13 a
F1IC3	6,84 d	1,46 d	5,55 b	0,50 b	9,80 cd
F3I0	24,65 abc	6,30 abc	6,42 b	2,43 ab	9,73 cd
F3IC2	11,34 cd	2,53 cd	2,90 b	0,66 b	12,47 abc
F3IC3	16,60 bcd	3,39 bcd	2,55 b	1,47 b	11,60 abc
F6I0	29,07 ab	7,06 ab	4,49 b	1,40 b	11,90 bc
F6IC2	7,56 d	1,79 d	2,76 b	0,60 b	9,73 d
F6IC3	14,85 bcd	3,65 bcd	3,34 b	0,86 b	9,80 cd
Interaksi	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)





Gambar 6. Hasil malai Padi di lahan

Tabel 10. Rerata Parameter Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Padi yang diinokulasi *Rhizobacteri indigenous* Merapi dan Frekuensi penyiraman

Perlakuan	Jumlah anakan	Tinggi Tanaman (cm)	Hasil Panen (ton/Ha)	Berat 1000 biji (g)
Faktor 1 :				
F1	11,933 a	11,933 a	0,22867a	30,000a
F3	11,089 a	11,089 a	0,20233ab	24,444a
F6	11,089 a	11,089 a	0,16339b	24,333a
Faktor 2 :				
I0	11,378 p	11,378 p	0,19549a	24,444a
IC2	12,133 p	12,133 p	0,20263a	24,333a
IC3	10,600 p	10,600 p	0,19628a	30,000a
Interaksi	(-)	(-)	(-)	(-)

Ada saling pengaruh antara frekuensi penyiraman dengan macam inokulum terhadap rerata berat segar akar, berat kering akar, panjang akar, berat segar tajuk dan berat kering tajuk. Tidak ada saling pengaruh dan tidak ada beda nyata antara frekuensi penyiraman dengan macam inokulum terhadap tinggi tanaman dan jumlah anakan.

Keberadaan koloni bakteri di daerah rhizosfir tanaman padi mampu berinteraksi dengan keadaan tingkat lengas tanah yang di ujikan dengan perlakuan frekuensi penyiraman. Hasil dari interaksi tersebut adalah terciptanya suasana yang kondusif di daerah rhizosfir, sehingga tanaman padi mampu meningkatkan pertumbuhan panjang akar dan berat segar akar. Panjang akar tertinggi dicapai oleh kombinasi perlakuan frekuensi penyiraman 1 hari sekali dengan inokulasicampuran isolat MB-MD, dengan panjang akar 15,133 cm yang tidak beda dengan penyiraman 3 hari sekali baik diinokulasi dengan isolat MB-MD maupun campuran isolat MA-MB-MD. Sedangkan berat segar akar tertinggi dicapai oleh perlakuan kombinasi frekuensi penyiraman 1 hari sekali dengan

Pengaruh interaksi antara perlakuan frekuensi penyiraman dan macam inokulum mikrobial terhadap indikator pertumbuhan tanaman padi ada beda nyata yaitu pada berat kering tajuk, yaitu kombinasi perlakuan frekuensi penyiraman 1 hari sekali tanpa inokulasi, yang sama dengan inokulasi isolat MB-MD, penyiraman 3 hr sekali bahkan 6 hari sekali dengan inokulasi campuran isolat MA-MB-MD. Secara nyata bahwa kombinasi perlakuan tersebut dapat meningkatkan hasil tanaman padi. Keberadaan masa bakteri yang diinokulasikan dapat meningkatkan serapan air dan unsur hara tanaman padi, hal ini tampak dengan adanya kecenderungan peningkatan berat 1.000 biji padi yang dihasilkan. Dengan peningkatan bobot gabah tersebut pada gilirannya akan meningkatkan hasil panen padi pada setiap luasan tanaman padi yang diusahakan.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Karakteristik koloni dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi ada perbedaan yaitu isolat MB dan MC berbentuk *Circular-Entire* berwarna putih kecuali isolat MA (*Curled*-putih dengan tepi *Undulate*) dan isolat MC (*Ramose*-kuning dengan tepi *Filamentous*) serta diameter koloni isolat MD paling besar (1,5 mm). Sedang karakteristik selnya sama, sifat gram negatif dan bentuk batang, kecuali isolat MD (*Coccus*). Dari sifat fisiologi semua bersifat aerob dan fermentatif, namun isolat MD sangat kuat menghidrolisis pati. Tipe pertumbuhannya adalah *fast growing* yang mencapai fase log selama 48 jam dan setelah itu mulai menurun jumlah koloninya.

2. Isolat MA, MB dan MD tahan terhadap cekaman osmotik hingga $> 2,75$ M NaCl, sedang isolat MC $< 0,5$ M NaCl. Isolat MD lebih kuat melarutkan Phosphat dibanding isolat MA dan MB, sedangkan isolat MC sangat rendah. Isolat MA dan MB kemampuan Nitrifikasinya sangat kuat dan mampu Amonifikasi daripada isolat MD dan isolat MC.

3. Isolat *Rizhobakteri indegenous* Merapi mampu berkembang di rhizosfer dalam polibag meskipun perlu adaptasi hingga minggu ke 3. Populasi campuran isolat MA-MB-MD sangat pesat dan tertinggi pada perlakuan IC3K100 ($7600,68 \times 10^7$ cfu/ml), namun dipengaruhi kadar lengasnya. Tidak ada saling pengaruh antara macam isolat *Rizhobakteri indegenous* Merapi dengan kadar lengas media tanam terhadap seluruh parameter pertumbuhan dan hasil tanaman padi. Juga tidak ada pengaruh signifikan dari inokulasi macam isolat terhadap seluruh parameter pertumbuhan dan hasil tanaman padi. Namun ada pengaruh nyata kadar lengas media tanam terhadap tinggi tanaman, jumlah anakan, berat segar dan berat kering tajuk, berat segar dan berat kering akar, panjang akar, jumlah malai dan berat 1000 biji. Tanaman padi dalam kondisi cekaman air atau lengas tanah 40 % nyata

..... lebih baik terhadap semua parameter pertumbuhan tanaman padi

4. Campuran inokulum MA-MB-MD dengan frekuensi penyiraman 1 hari sekali, memiliki populasi tertinggi di lahan. Pengaruh interaksi antara perlakuan frekuensi penyiraman dan macam inokulum mikrobial terhadap indikator pertumbuhan tanaman padi ada beda nyata yaitu pada berat kering tajuk, yaitu kombinasi perlakuan frekuensi penyiraman 1 hari sekali tanpa inokulasi, yang sama dengan inokulasi isolat MB-MD, penyiraman 3 hr sekali bahkan 6 hari sekali dengan inokulasi campuran isolat MA-MB-MD. Secara nyata bahwa kombinasi perlakuan tersebut dapat meningkatkan hasil tanaman padi.

B. Saran

1. Mengingat karakter ke empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi banyak persamaannya, namun mempunyai perbedaan yang besar dalam fungsi sebagai pupuk hayati maka perlu dilakukan identifikasi sampai tingkat molekular melalui amplifikasi PCR dan analisis 16sDNA *Squensing*.
2. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang pengujian isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi MA, MB, MD sebagai inokulum ke tanaman padi pada lahan marginal dengan keterbatasan air s.d 40 % KL dan lahan marginal yang lain
3. Perlu dilihat responnya terhadap berbagai cara aplikasi inokulum isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi dengan kadar lebih tinggi.
4. Perlu dicoba inokulasi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada berbagai varietas tanaman padi.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah Abas Idjudin, Dedy Erfandi dan S, Sutono. 2011. Teknologi Peningkatan Produktivitas Lahan Endapan Vulkanik Pasca Erupsi G. Merapi. <http://balittanah.litbang.deptan.go.id/dokumentasi/lainnya/Teknologi%20Peningkatan%20Prod%20Lhn%20Endpn%20Volk%20Pasca%20Erupsi%20G%20Merapi%20Pa%20Abas.pdf>. Akses 23 Maret
- Agung-Astuti. 2010.** Isolasi dan Karakterisasi *Rhizobacteri* Akar Rumput di lahan Pasir Vulkanik Merapi (Laporan Penelitian)
- Chaudhory, D.K., K.P. Sharma & R.K. Gaur. 2011. Biotechnology Perspectives of microbes in agro-ecosystems. *Biotechnology Letters* 33 (10) : 1905-1910
- Ikhwan, A. 2008. Pengaruh Inokulum Rhizobacteria (Tahan kekeringan dan kemasaman) dan Penambahan Pupuk kandang Sapi Terhadap Pertumbuhan dan hasil Kacang tanah. Laporan Penelitian JIPTUMM.
- Garcia, L., J.A. Probanza, A. Ramos, R.B. Palomino, G.M. Manero. 2004. Effects of inoculation with PGPR on seedling growth of different tomato and pepper varieties in axenic conditions. <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/lucasgarcia.pdf>.
- Holt, J.G., N.R.Krieg, P.H.A. Sneath, J.T. Staley and S.T. Williams (1994) *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (ninth Edition). Williams & Wilkins. Baltimore, USA. 787 p.
- Imai K, Satoshi Takahashi, Masao Kamahori, Yoshinobu Kohara. 2011. Multi-capillary DNA Sequencer. 107-109. http://www.hitachi.com/rev/1999/revjun99/r3_102.pdf. Akses 31 Maret 2011.
- Li, B., Bao-Ping Liu, Rong-Rong Yu, Miao-Miao Lou, Yan-Li Wang, Guan-Lin Xie, Hong-Ye Li, Guo-Chang Sun. 2011. Phenotypic and molecular characterization of rhizobacterium *Burkholderia* sp. strain R456 antagonistic to *Rhizoctonia solani*, sheath blight of rice. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 27(10): 2305-2313
- Murthy, Mg & JK Ladha. 1988. Influence of *Azospirillum* inoculation on the Mineral Uptake and Growth of Rice under Hydroponic Condition. *Plant & Soil* (108) : 21-28
- Nakkeeran, S, W.G. Dilantha Fernando and Zaki A. Siddiqui. 2005. Plant Growth Promoting Rhizobacteria Formulations and Its Scope In Commercialization for the Management of Pests and Disease. *Springer, Dordrecht, The Netherlands*

- Radha P., L. Nain, A.K. Pandey and A.K. Saxena. **2011**. Microbial Diversity and Multidimensional Interactions in The Rice Ecosystem. Archives of Agronomy and Soil Science 2011 : 1-22
- Saharan B.S. and V Nehra. **2011**. Plant Growth Promoting Rhizobacteria: A Critical Review. Life Sciences and Medicine Research, Volume 2011: LSMR-21
- Sambrook, J., Fritsch, E.F., and Maniatis, T. **1989**. Molecular Cloning. A Laboratory Manual. Second edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Sindhoesaroyo. **1995**. *Pengembangan Penambatan N Secara Hayati*. Dalam Risalah Lokakarya Penelitian. Penambatan Nitrogen Secara Hayati Pada Kacang-kacangan. hal 68 – 120.
- Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, R.C. Boro, M.R. Khan. **2004**. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soils of Assam. Current Sci 86:978-985.
- Triwibowo Y., A. Ikhwan, J. Soedarsono. **2003**. Growth Response of Rhizobacterial Isolates under Salt Osmotic Stress in the Presence of Different Carbon Sources. Jurnal Microbiology Indonesia 8 (2) : 1-10

LAMPIRAN-LAMPIRAN

Lampiran I. *Instrument* Penelitian

No.	Nama Alat	Lokasi	Kegunaan
1.	Laminar air flow	Lab. Kultur in vitro UMY	Melakukan pekerjaan asep-tik
	Ruang inokulasi	idem	Reaksi PCR
	PCR	idem	Isolasi DNA
	Sentrifuge	idem	
		Lab. Bioteknologi UMY	
2.	Autoclave	idem	Sterilisasi alat, medium
3.	Inkubator	idem	Inkubasi kultur mikrobial
4.	Shaker	idem	kultur mikrobial
5.	Fermenter	idem	Produksi inokulum
6.	Freezer	idem	Menyimpan kultur mikrobial
7.	Alat-alat lain (pipet dll)	idem	Pekerjaan laboratorium
8.	Spektrofotometer (UV/Vis)	idem	Analisis
9.	Mikroskop	idem	Pengamatan sel mikrobial
10.	Sentrifuge	idem	Produksi inokulum
11.	Rumah Kaca	Fakultas Pertanian UMY	Menumbuhkan tanaman
12.	Lahan Percobaan	Kampus UMY	Pengujian Lapangan

Lampiran II. Personalia Tenaga Peneliti

No	Nama	Bidang Ilmu	Alokasi	Waktu	Uraian Tugas
			(jam/ minggu)	Bulan/ Thn	
1.	Ir. Agung Astuti, M.Si	Molekular/ Mikrobiologi	15	10	TAHUN I : - Identifikasi&Karakterisasi <i>Rhizobacteri</i> - Uji kemampuan pupuk hayati - Perbanyakkan inokulum
2	Ir. Sarjyah, MS	Teknologi Benih	10	10	TAHUN I: - Pengujian benih - Perlakuan inokulum pd benih - Pengujian skala pot - Analisis hasil & statistik
3.	Ir. Hariyono, MP	Produksi Tanaman	10	10	TAHUN I: - Pengujian lapangan - Analisis hasil & statistik

Lampiran III. Target luaran :

A. Bukti Seminar Nasional



B. Draf naskah publikasi jurnal

IDENTIFIKASI DAN KARAKTERISASI ISOLAT *Rhizobacteri indigenous* MERAPI BERSIFAT OSMOTOLERAN

Agung_Astuti, Sarjiyah, Hariyono
Prodi Agroteknologi Universitas Muhammadiyah

Abstract

Rhizobacteri indigenous Merapi isolates have been detected, and MA, MB, and MD isolate could withstand osmotic stress up to >2.75 M NaCl. MD isolate was stronger in dissolving Phospate than MA and MB isolate, but MA and MB isolate had much stronger Nitrification capability and could perform ammonification than MD isolate. This research studied about Rhizobacteri Indigenous Merapi isolate as identification, as well as characterization. Results show that there is a difference in colonial characteristic of four Rhizobacteri indigenous Merapi isolate where MB and MC isolate (white Circular-Entire shape), except for MA isolate (Curled-white with Undulate edge) and MC isolate (Ramose-yellow with Filamentous edge) and also that MD isolate have the biggest diameter (1,5 mm). Cell characteristics, however, were the same, gram-negative and were rod shaped, except for MD isolate (coccus). All showed aerob and fermentative characteristic, although MD isolate very strongly hydrolyze starchs. The growth type is fast growing which reach log phase for 48 hours and then the number of colony decrease.

PENDAHULUAN

Peristiwa erupsi Merapi pada akhir bulan November 2011 di Daerah Istimewa Yogyakarta berdampak pada rusaknya ratusan hektar lahan pertanian. Hampir sebagian besar lahan yang berada di sekitar gunung Merapi terkena material vulkanik yang menyebabkan semua tanaman menjadi mati. Hal ini tentu sangat berpengaruh terhadap perkembangan mikroorganisme yang ada di dalam tanah disekitar gunung Merapi. Menurut Abdullah (2011) Lahar dan awan panas dapat menyebabkan kerusakan ekosistem mikroorganisme tanah. Mikroorganisme tanah dapat musnah saat lahan tertutup lava pijar yang sangat panas. Namun ternyata kondisi pasca erupsi Merapi masih terdapat sebagian tanaman yang mampu hidup sebagai tanaman *pioneer*. Hal ini menunjukkan bahwa tanaman tersebut memiliki kemampuan adaptasi yang luar biasa, antara lain karena adanya dukungan mikrobial di dalam tanah.

Salah satu faktor yang berperan penting dalam pertumbuhan sebagian besar tanaman tersebut ialah adanya mikroorganisme dalam tanah yang memiliki kemampuan untuk mengembalikan kesuburan tanah sehingga tanaman masih mampu untuk tumbuh dan berkembang. Salah satu mikrobial dalam tanah yang memiliki kemampuan untuk mengembalikan kesuburan tanah yaitu *Rhizobacteri indigenus*. Mikroorganisme ini sudah terbukti dalam beberapa penelitian memiliki kemampuan untuk meningkatkan bahkan mempertahankan kesuburan tanah. Hasil penelitian Agung_Astuti (2012) memperoleh empat isolat dari akar rumput di lahan pasir vulkanik Merapi, yaitu isolat MA, MB dan MD. Isolat tersebut tahan terhadap cekaman osmotik hingga $> 2,75$ M NaCl, sedang isolat MC $< 0,5$ M NaCl. Isolat MD lebih kuat kemampuan melarutkan Phosphat, dibanding dengan isolat MA dan MB, sedangkan isolat MC sangat rendah. Semua isolat tidak mampu memfiksasi Nitrogen, namun isolat MA dan MB kemampuan Nitrifikasinya sangat kuat dan mampu Amonifikasi daripada isolat MD dan isolat MC (Agung_Astuti dkk, 2013).

Mengingat potensi isolat tersebut untuk dikembangkan sebagai pupuk hayati maka untuk selanjutnya isolat disebut sebagai *Rhizobacteri indigenus*

yang ada di lahan pasir vulkanik Merapi. Untuk itu perlu dilakukan karakterisasi baik ditingkat koloni, sel, sifat fisiologis dan kurve pertumbuhannya, sesuai dengan manual pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengkarakterisasi *Rhizobacteri indigenous* Merapi.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan adalah *Rhizobacteri indigenous* Merapi isolat MA, MB, MC, MD, medium Nutrien Agar, Luriar Bertani+ NaCl, medium Pati cair, medium Sukrosa, medium Glukosa.

Alat yang digunakan adalah untuk Sterilisasi (*Outoklaf*, oven, *Erlemeyer*, gelas piala), tahap isolasi dan pemurnian (lampu alkohol, lumpang dan martir, tabung reaksi, jarum ose, *petridish*, pipet ukur, *driglasky*, *skalpel*, pinset, mikro pipet, *blue* dan *yellow tip*), alat analisis (*Starquad colony counter*, timbangan elektrik, mikroskop).

Metode Percobaan. Penelitian Laboratorium dengan melakukan eksperimen yang menggunakan metode Deskriptif, meliputi dua tahap yaitu karakterisasi dan penentuan kurve pertumbuhan.

Tahap I adalah Karakterisasi koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi dengan metode *surface plating* pada medium LB+NaCl. Karakterisasi sel dengan pengecatan gram dari isolat yang ditumbuhkan pada medium LB. Sifat fermentatif dengan inokulasi pada medium pati cair, Sukrosa, Glukosa dalam tabung durham. Aerobisitas dengan inokulasi pada medium LB dalam tabung reaksi.

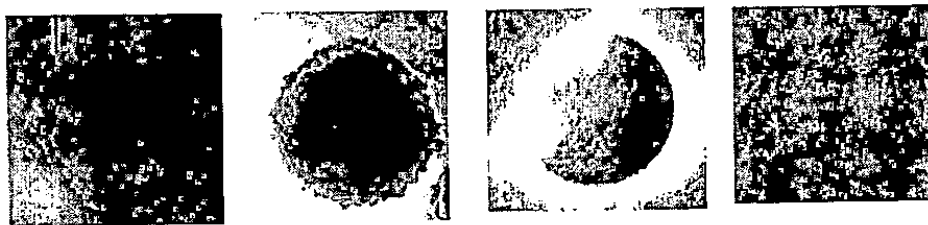
Tahap II adalah penentuan kurve pertumbuhan isolat dengan inokulasi *surface plating* pada medium LB+NaCl dan jumlah mikroba dihitung pada hari ke 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6.

HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Isolasi dan pemurnian isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi

Untuk mendapatkan isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi yang murni maka

(*surface plating method*) dan menumbuhkannya sebagai biakan murni menggunakan metode goresan (*streak plating method*) (Jutono dkk., 1980). *Plating* awal yang berasal dari sumber, menghasilkan 8 jenis isolat berbeda berdasarkan bentuk dan warnanya (Agung_Astuti, 2010), yang selanjutnya dilakukan *re-plating*. Hasil yang diperoleh, terdapat beberapa jenis koloni yang masih sama bentuk, warna dan ukurannya sehingga pada *re-plating* kedua diperoleh 4 isolat *Rhizobacteri indigenous*. yang berbeda bentuk, warna, ukurannya, yaitu isolat MA, MB, MC dan MD. Visualisasi isolat pada gambar 1 sedang karakter warna dan diameter koloni pada tabel 1.



(a) Putih serabut (b) Putih (c) Kuning (d) Putih krem
Gambar 1. Koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi MA, MB, MC dan MD

Tabel 1. Warna & Diameter Koloni Isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Warna	Putih serabut	Putih	Kuning	Putih krem
diameter	0,1 cm	0,2 cm	0,1 cm	1,5 cm

Warna koloni isolat *Rhizobacteri indigenous* Merapi berwarna putih-krem dan kuning, dengan diameter koloni berkisar antara 0,1 -0,2 cm. Sedang menurut Holt *et al.* (1994) warna *Rhizobacteri* adalah putih atau putih kekuningan pada medium DYPG dengan ukuran sel 0,9-1,3 x 2,1-2,5 um.

Mikrobia hasil isolasi yang telah tumbuh sebagai koloni tunggal, selanjutnya dilakukan pemurnian dan di-identifikasi menurut karakterisasi bentuk koloni, diameter koloni, elevasi, bentuk tepi, struktur dalam, warna dan karakterisasi bentuk sel serta sifat gram.

b. Identifikasi Koloni dan Sel *Rhizobacteri indigenous* Merapi

Determinasi meliputi kegiatan identifikasi dan klasifikasi. Kriteria yang

morfologi meliputi karakteristik sel vegetatif dan sel reproduktif vegetatif (spora), (2) Karakteristik kultur yaitu pertumbuhan medium cair (aerobisitas) dan medium padat (bentuk koloni, elevasi, bentuk tepi dan struktur dalam), (3) Sifat gram positif atau gram negatif (Pelczar *et al*, 2001). Hasil karakterisasi koloni dan sel isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi tersaji pada tabel 2.

Tabel 2. Karakterisasi Koloni dan Sel Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk koloni	<i>Curled</i>	<i>Circular</i>	<i>Circular</i>	<i>Ramuse</i>
Bentuk tepi	<i>Undulate</i>	<i>Entire</i>	<i>Entire</i>	<i>Filamentous</i>
Elevasi	<i>Convex</i>	<i>Low Convex</i>	<i>Low Convex</i>	<i>Convex rugose</i>
Struktur dalam	<i>Transparant</i>	<i>Coarsely granular</i>	<i>Filamentous</i>	<i>Arborescent</i>

Hasil identifikasi diperoleh bentuk koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi adalah *Circular*, *Curled* dan *Ramuse*, dengan bentuk tepi *Entire*, *Undulate*, *Filamentous*. Menurut Holt *et al.* (1994) secara umum *Rhizobacteri* berbentuk datar (*flat*) sampai cembung (*convex*) dan kerucut (*umbonate*). Hal ini sesuai dengan koloni isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yang bentuk elevasinya *Convex (low-Rugose)*.

Tabel 3. Karakterisasi Sel Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakter Koloni	Isolat MA	Isolat MB	Isolat MC	Isolat MD
Bentuk sel	Batang	Batang	Batang	<i>Coccus</i>
Gram	Negatif	Negatif	Negatif	Negatif

Karakterisasi sel *Rhizobacteri* adalah bakteri gram negatif dengan bentuk batang (*rods*) (Holt *et al.*, 1994). Hal tersebut sesuai dengan sifat gram isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi yaitu gram negatif, dengan bentuk batang dan batang pendek.

c. Karakterisasi fisiologi Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Karakteristik fisiologi dilakukan dengan pengujian biokimia seperti penggunaan senyawa karbon sebagai fermentatif dan pengujian biokimia khusus lainnya (Pelczar *et al*, 2001). Hasil pengujian sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada tabel 4.

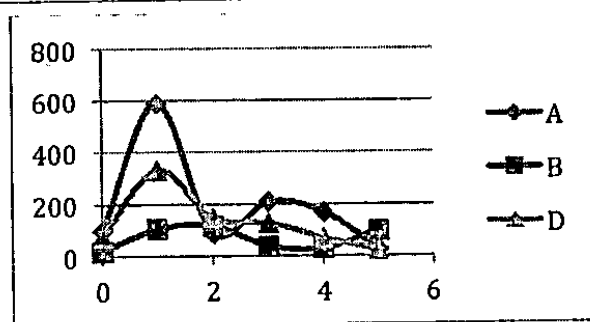
Tabel 4. Sifat fisiologi isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Pengujian		MA	MB	MC	MD
Aerobisitas		Aerob	Aerob	Aerob	Aerob
Sukrosa	Asam	3+	1+	2+	1+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Glukosa	Asam	2+	1+	1+	2+
	Gas	1+	1+	1+	1+
Amilum	Hidrolisis	4+	1+	2+	3+

Sifat fisiologi dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi semua bersifat aerob yang ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan dipermukaan medium LBC pada tabung reaksi. Hal tersebut sesuai dengan sifat *Rhizobacteri* pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt *et al.*, 1994) yaitu menghasilkan asam dari glukosa dan menghidrolisis pati, tampak bahwa isolat MA bersifat sangat kuat.

d. Kurve Pertumbuhan isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi

Optimasi inokulum dilakukan untuk mengetahui tipe pertumbuhan isolat dan mengoptimalkan jumlah bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi pada inokulum yang akan dire-inokulasikan pada tanaman agar jumlah *Rhizobacteri indigenus* Merapi dapat mencukupi dalam menginfeksi akar yang optimal. Syarat untuk dapat menghasilkan inokulum yang optimal untuk *Rhizobacteri indigenus* adalah $10^8 - 10^9$ CFU/ml (Elkan, 1987). Untuk mencapai jumlah sel yang memenuhi maka dilakukan kultur gojog selama 144 jam dan dilakukan perhitungan jumlah sel dengan metode *plating* setiap 24 jam. Rerata jumlah sel dari 4 isolat dapat dilihat pada gambar 3 .



Gambar 2. Pertumbuhan Isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi (x 10⁷ cfu/ml)

Dari gambar 2 dapat dilihat bahwa pada kultur gojog 48 jam pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi sudah optimal. Pada masa tersebut bakteri dalam fase akhir *log* yaitu pertumbuhan dengan peningkatan secara eksponensial berlangsung sangat cepat, meskipun setiap isolat berbeda – beda, diduga dipengaruhi oleh tipe pertumbuhan masing – masing isolat. Sedang pertumbuhan isolat bakteri *Rhizobacteri indigenus* Merapi baru mulai fase penurunan setelah 48 jam dan jumlah bakteri terus menurun sampai waktu 72 jam.

KESIMPULAN

1. Karakteristik koloni dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi ada perbedaan yaitu isolat Mb dan MC berbentuk koloni *Circular-Entire* dan berwarna putih kecuali isolat MA (*Curled*-putih dengan tepi *Undulate*) dan isolat MC (*Ramose*-kuning dengan tepi *Filamentous*) serta diameter koloni isolat MD paling besar (1,5 mm). Sedang karakteristik selnya mempunyai kesamaan sifat gram (negatif) dan bentuk (batang) kecuali isolat MD (*Coccus*).
2. Sifat fisiologi dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi semua bersifat aerob dan fermentatif, namun isolat MD sangat kuat karena dapat menghidrolisis pati.
3. Kurve pertumbuhan dari empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi mencapai fase *log* sampai 48 jam kemudian terjadi penurunan koloni.

SARAN

Mengingat ke empat isolat *Rhizobacteri indigenus* Merapi banyak persamaannya, namun mempunyai perbedaan yang besar dalam fungsi sebagai pupuk hayati maka perlu dilakukan identifikasi sampai tingkat molekular melalui amplifikasi PCR dan analisis 16sDNA *Squensing*.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah Abas Idjudin, Dedy Erfandi dan S, Sutono. 2011. Teknologi Peningkatan Produktivitas Lahan Endapan Vulkanik Pasca Erupsi G. Merapi.

[eningkatan%20Prod%20Lhn%20Endpn%20Volk%20Pasca%20Erupsi%20OG%20Merapi%20 Pa%20Abas.pdf](#). Akses 23 Maret

Agung_Astuti. 2012. Isolasi *Rhizobacteri Indigenous* Lahan Pasir Vulkanik Merapi

Yang Tahan Terhadap Cekaman Kekeringan. *Disampaikan pada seminar ilmiah di Fakultas Pertanian UMY pada 24 Nopember 2012*

Agung_Astuti, Sarjiyah dan Hariyono. 2013. Uji Potensi *Rhizobacteri Indigenous* Lahan Pasir Vulkanik Merapi Untuk Dikembangkan Sebagai Pupuk Hayati Di Lahan Marginal, *Dalam* Prosiding Seminar Nasional Pemanfaatan Lahan Marginal Sumberdaya Lokal untuk Mendukung Ketahanan Pangan Lokal, HITI & UNSOED Purwokerto, 8 Juni 2013.

Brock, 1997. *Biology of Microorganisms*. Southern Illinois University-carbondale. Prentice Hall International, Inc.

Elkan, 1987. *Determinative Bacteria : Bergey's Manual*.

Hartmann, A., Prabhu, S.R., and Galinski, E.A. 1991. Osmotolerance of diazotrophic rhizosphere bacteria. *Plant and Soil* 137:105-109.

Pelczar, M.J dan E.C.S. Chan. 1988. *Dasar – dasar Mikrobiologi*. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.

Sutariati, G.A.K dan A. Wahab. 2006. Isolasi dan Uji Kemampuan Rizobacteri Indigenous sebagai agensia Pengendali hayati penyakit pada tanaman cabai. Fakultas Pertanian Universitas Haluoleo dan Tridharma Anduonohu, Kemdari, Sulawesi tenggara. http://hortikukltura/litbang.deptan.go.id/jurnal_pdf/201/sutartiaty.cabai.pdf. Akses 15 Maret 2011

Thakuria, D., N.C. Talukdar, C. Goswami, S. Hazarika, R.C. Boro, M.R. Khan. 2004. Characterization and screening of bacteria from rhizosphere of rice grown in acidic soil of assam. *Current Sci* 86: 978-985

Thuar, A.M., C.A. Olmedo. C. Bellone.2004. Green House studies on growth promotion of maize inoculated with plant growth promoting rhizobacteria (PGPR). <http://www.ag.auburn.edu/argentina/pdfmanuscripts/thuar.pdf>. Akses 23 Maret 2011

Wei, G., J.W. Kloepper, S, S. Tuzun. 1996. Induced of systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth promoting rhizobacteria

C. Bukti TTG : sosialisasi kepada petani



FDG dengan petani Tamantirto pada 18 Nopember 2013



