

The Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria and IAA Producers from Cactus Rhizosphere on the Germination of *Vigna sinensis* L.

Muhammad Fikri Alfiansyah¹, Lalu Zulkifli^{1*}, Dewa Ayu Citra Rasmi¹

¹Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Mataram, Mataram, Nusa Tenggara Barat, Indonesia;

Article History

Received : April 16th, 2023

Revised : May 21st, 2023

Accepted : June 04th, 2023

*Corresponding Author:

Lalu Zulkifli,
Program Studi Pendidikan
Biologi, Fakultas
Keguruan dan Ilmu
Pendidikan, Universitas
Mataram, Mataram, Nusa
Tenggara Barat,
Indonesia;
Email:
lalu_zulkifli@unram.ac.id

Abstract: This study aims to examine the effect of phosphate-solubilizing bacteria and IAA producers on the germination of *Vigna sinensis* L. The bacteria were isolated from the cactus rhizosphere in Senteluk Village, Batulayar Subdistrict, West Lombok. The soluble phosphate was measured qualitatively and quantitatively. Qualitative measurement was based on the solubility of P in the growth medium (solid Pikovskaya) with a clear zone indicator around the bacterial colonies. The solubility of P (liquid Pikovskaya) and IAA production were measured using a spectrophotometer at wavelengths of 430 nm and 530 nm, respectively. In vitro testing of the effects of phosphate-solubilizing bacteria and IAA-producing bacteria on the germination of long beans (*Vigna sinensis* L.), specifically the *Parade tavi* variety, was conducted by soaking the long bean seeds in the bacterial suspension and then planting them on Murphy agar medium. The plant height, root length, fresh weight, and dry weight were measured and analyzed using One-Way ANOVA. The bacterial characterization included colony morphology, cell shape, and biochemical tests. The research results obtained 8 isolates that could solubilize phosphate in the low category while producing IAA and 2 other isolates that only produced IAA. Quantitative phosphate solubilization showed the highest soluble phosphate on days 4 and 6 of incubation. The highest IAA production (14.25 ppm) was achieved by the rhizosphere bacterial isolate with the code RK7. The results showed that there was an indication of the influence of phosphate solubilizing and IAA-producing bacteria isolated from the rhizosphere of cactus on *Vigna sinensis* L. germination, although not significantly different. This shows that local bacterial isolates are quite potential as a source of biofertilizer development in the future.

Keywords: Cacti; IAA, phosphate, rhizobacteria, *Vigna sinensis* L.

Pendahuluan

Biofertilizer (pupuk hayati) umumnya didefinisikan sebagai sediaan yang mengandung mikroorganisme tanah yang mampu meningkatkan ketersediaan serta penyerapan unsur hara, meningkatkan ketebalan (proteksi) tanaman dari serangan hama dan penyakit, memproduksi berbagai senyawa yang dapat merangsang pertumbuhan tanaman sehingga membuat produksi tanaman meningkat. Adapun jenis mikroba yang sering digunakan sebagai pupuk hayati seperti mikroba penambat N, pelarut fosfat, pelarut kalium, penghambat penyakit (antagonis),

pengurai senyawa polutan (bioremediasi), dan perombak bahan organik (dekomposer) (Jaya *et al.*, 2017). Mikroba pelarut fosfat dapat menyediakan fosfat terlarut yang dapat diserap oleh tanaman, selain itu, pada beberapa jenis mikroba juga diketahui dapat meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui pelarutan fosfat dan produksi IAA (Chaudhary *et al.*, 2022).

Penggunaan pupuk hayati merupakan strategi untuk meningkatkan hasil pertanian dan mengurangi penggunaan pupuk kimia sehingga dapat menciptakan pertanian berkelanjutan (Kumar *et al.*, 2022). Hal ini dikarenakan peningkatan penggunaan dari

pupuk anorganik dengan kombinasi herbisida dan pestisida pada sistem tanam intensif dapat menyebabkan ancaman terhadap keberlanjutann ekosistem. Peningkatan penggunaan pupuk sintetis bisa menimbulkan tingkat kerusakan yang lebih tinggi dibandingkan kerusakan oleh herbivora tanaman. Penggunaan pupuk kimia secara kontinu juga berperan dalam meningkatkan keasaman tanah, pencucian unsur hara serta mendegradasi sifat fisik pada tanah dan status dari bahan-bahan organik (Maghfoer, 2018).

Mikroorganisme yang sering dimanfaatkan sebagai pupuk hayati umumnya diisolasi dari rizosfer tanaman di mana mereka menjalin kontak dekat dengan akar (Soumare *et al.*, 2020). Pengambilan sampel rizosfer dilakukan di Desa Senteluk Kecamatan Batulayar. Kecamatan Batulayar diketahui memiliki curah hujan per tahun mencapai 1.203 mm (SIPDS, 2020) sehingga dapat dikatakan sebagai wilayah lahan kering beriklim kering karena intensitas hujan < 2000 mm per tahun (Alim *et al.*, 2022) dengan tipe tanah berpasir. Wilayah kering di Desa Senteluk juga dicirikan oleh vegetasi yang sering dijumpai di lahan kering seperti kaktus sehingga penelitian ini menggunakan rizosfer kaktus di Desa Senteluk Kec. Batulayar sebagai sampel isolasi bakteri. Tekstur tanah dapat mempengaruhi transportasi mikroba dan kolonisasi akar oleh mikroorganisme.

Penelitian oleh Santos *et al* (2020) tentang rizobakteri yang berasosiasi dengan kaktus pada wilayah semi kering menunjukkan bahwa dari sembilan puluh jenis bakteri, 88% diklasifikasikan sebagai Gram positif dan 12% sebagai Gram negatif. Beberapa diantaranya mampu melarutkan fosfat serta menghasilkan IAA dengan menggunakan L-triptofan sebagai prekursor (Kavamura *et al.*, 2013). Eksplorasi tentang bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA perlu dilakukan untuk mendapatkan isolat potensial untuk dijadikan salah satu bahan biofertilizer guna meningkatkan hasil pertanian. Area rizosfer tumbuhan kaktus di Desa Senteluk Kecamatan Batulayar dengan tipe lingkungan kering beriklim kering dan tipe tanah berpasir belum pernah dilakukan eksplorasi tentang bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA sehingga perlu dilakukan eksplorasi.

Berdasarkan uraian tersebut, dilakukan penelitian dengan berjudul “Efek Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA dari Rizosfer Kaktus Terhadap Perkecambahan *Vigna sinensis* L.”.

Metode

Penelitian dilakukan pada tahun 2022–2023 di laboratorium Mikrobiologi dan laboratorium Kimia Jurusan Pendidikan MIPA, FKIP Universitas Mataram.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu *laminar air flow*, cawan petri, gelas kimia, tabung reaksi, autoklaf, inkubator, neraca analitik, pipet tetes, pipet mikro, *erlenmeyer*, jarum ose, mistar, silet, kaca objek, *shaker*, *hotplate*, sendok, sentrifugasi, spektrofotometer, alat tulis, alat dokumentasi, mikroskop, penjepit, plastik kresek.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu biji kacang panjang, NaCl fisiologis 0,9%, pereaksi pewarna P, kertas label, media agar Murphy, media Pikovskaya, media *Simmon citrate*, media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), media Pati, media NB (*Nutrient Broth*), agar, triptofan, media NA (*Nutrient Agar*), sampel rizosfer, larutan kristal ungu, aquades, kertas saring, korek api, safranin, minyak imersi, lugol, alkohol 70%, tisu, *plastic wrap*, tepung kanji, glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa, *pepton water*, H₂O₂, reagen Salkowski.

Prosedur Penelitian

Isolasi Bakteri

Bakteri diisolasi dari rizosfer kaktus Desa Senteluk, Kecamatan Batulayar, Kabupaten Lombok Barat pada 5 titik dengan kedalaman 5–10 cm, kemudian dibungkus dengan plastik dan disimpan dalam lemari es. Disiapkan tabung Erlenmeyer dengan 20 ml akuades steril, ditambahkan 5 gr sampel rizosfer, dan homogenkan selama 30 menit menggunakan shaker dengan kecepatan 200 rpm. Bahan yang sudah homogen diambil dengan mikropipet sebanyak 1 ml dan ditambahkan ke dalam tabung reaksi dengan 9 ml garam fisiologis steril untuk pengenceran. Proses ini diulang sampai pengenceran 10⁻⁶ tercapai. Vortex digunakan untuk menghomogenkan setiap pengenceran.

Penumbuhan bakteri dilakukan dengan mengambil 0,1 ml dari pengenceran 10^{-4} , 10^{-5} , dan 10^{-6} dan dipindahkan ke media NA dengan teknik *pour plate*. Dilakukan pemurnian pada bakteri dengan morfologi koloni yang berbeda untuk dilakukan uji selanjutnya. Pemurnian dilakukan dengan teknik *pour plate* pada media NA yang baru dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C .

Pengukuran Pelarutan Fosfat oleh Bakteri

Isolat bakteri diinokulasi pada media NB dan dikultur pada suhu 30°C selama 24 jam. Bakteri yang telah berkembang pada media NB dihomogenkan, kemudian kultur bakteri diambil dengan mikropipet dan diinjeksikan pada media Pikovskaya padat sebanyak tiga titik. Setelah itu, media Pikovskaya yang mengandung bakteri diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Diamati area bening (halo zone) di sekitar isolat bakteri. Menurut Sharon *et al.*, (2016), rumus yang digunakan untuk menentukan nilai indeks kelarutan fosfat pada persamaan 1.

(1)

Indeks kelarutan fosfat dikategorikan berdasarkan kategori menurut Silva dan Vidor (2000).

Tabel 1. Kategori Indeks Kelarutan Fosfat

Indeks Kelarutan Fosfat	Kategori
<1,00	Sangat rendah
1,00-2,00	Rendah
2,00-3,00	Sedang
>3,00	Tinggi

Perhitungan aktivitas bakteri pelarut fosfat secara kuantitatif dilakukan dengan membuat suspensi bakteri sesuai standar Mc. Farland kemudian diambil sebanyak $500\ \mu\text{m}$ dan diinokulasikan pada media Pikovskaya cair dan diinkubasi pada *shaker* selama 8 hari dengan kecepatan 200 rpm. Kultur bakteri diambil pada inkubasi hari ke 2, 4, 6, dan 8 untuk disentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Kemudian diambil supernatannya sebanyak 1 ml dan direaksikan dengan reagen fosfat sebanyak 1 ml (1:1) di dalam tabung reaksi selama 30 menit. Setelah 30 menit dilakukan uji spektrofotometri dengan serapan panjang gelombang 430 nm. Konsentrasi fosfat terlarut dari sampel di hitung berdasarkan kurva standar fosfat.

Pengukuran Produksi IAA oleh Bakteri

Pengukuran kemampuan bakteri dalam memproduksi IAA dilakukan secara kuantitatif. Isolat bakteri diremajakan pada media NAS (*Nutrient Agar Slant*) selama 24 jam. Disiapkan 9 ml suspensi bakteri sesuai standar Mc Farland, $500\ \mu\text{m}$ suspensi biakan bakteri ditambahkan ke dalam 10 ml media NB cair ditambah triptofan (200 ppm) dan di-shaker selama tiga hari dengan kecepatan 200 rpm. Teknik kalorimetri digunakan untuk mengukur produksi IAA. Cairan biakan yang telah di-shaker kemudian dilakukan sentrifugasi selama 20 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan yang dihasilkan kemudian diukur kemampuannya dalam memproduksi IAA dengan menambahkan pereaksi salkowski dengan perbandingan 2:1 terhadap supernatant dan didiamkan 30 menit pada lingkungan gelap. Dilakukan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada serapan panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA dari sampel dihitung berdasarkan kurva standar dengan standar IAA murni.

Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA

Karakterisasi dilakukan dengan mengamati karakteristik morfologi koloni, fisiologis, dan uji biokimia. Pengamatan karakter morfologi koloni meliputi permukaan, bentuk, elevasi, tepi, dan warna. Pewarnaan Gram digunakan untuk mengamati sifat fisiologis dalam sampel. Dilakukan uji biokimia seperti uji TSIA, uji Simmon Sitrat, uji katalase, uji fermentasi karbohidrat, uji motilitas, dan uji hidrolisis pati (Vasanthakumari, 2007).

Uji *In Vitro* Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA terhadap Perkecambahan Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.)

Pengambilan sampel biji kacang panjang dilakukan dengan pengacakan pada biji dengan ukuran yang sama. Biji kacang panjang dibersihkan dengan air steril setelah disterilkan dengan alkohol 70% dan NaOCl 5% masing-masing selama 2 menit. Isolat bakteri terpilih ditumbuhkan dalam media NB selama 24 jam, kemudian disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 10 menit. Perkecambahan kacang panjang diberi perlakuan menggunakan pellet dari hasil sentrifugasi yang telah disuspensikan

kembali dalam akuades steril hingga volumenya mencapai 25 ml (Joko *et al.*, 2015).

Perendaman dilakukan pada biji kacang panjang dengan 4 perlakuan yaitu perendaman pada air biasa tanpa penambahan suspensi bakteri (P₀), perendaman pada kultur bakteri pelarut fosfat (P₁), perendaman pada kultur bakteri penghasil IAA (P₂), perendaman pada kultur bakteri pelarut fosfat + penghasil IAA (P₃). Perendaman biji kacang panjang pada masing-masing perlakuan dilakukan selama 1 jam. Biji kacang panjang yang telah direndam pada setiap perlakuan kemudian ditumbuhkan pada cawan petri yang berisi media Murphy (Fitriatin *et al.*, 2020) selama 6 hari. Pengamatan dilakukan dengan mengukur pertumbuhan kecambah dengan parameter tinggi tanaman (cm), panjang akar (cm), berat segar (gr), dan berat kering (gr) di akhir pengamatan.

Analisis Data

Hasil uji *in vitro* pengaruh bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA terhadap perkecambahan kacang panjang dianalisis menggunakan *One Way ANOVA* ($\alpha=0.05$) untuk melihat pengaruh perlakuan. Dilanjutkan uji

lanjut DMRT (Duncan's Multiple Range Test) untuk melihat perlakuan terbaik apabila mendapatkan hasil yang berbeda nyata pada uji *One Way ANOVA*. Pengukuran kualitatif kelarutan fosfat dapat dilihat berdasarkan zona bening. Hasil pengukuran pelarutan fosfat dan produksi IAA dilihat secara kuantitatif berdasarkan absorbansi.

Hasil dan Pembahasan

Isolasi Bakteri

Hasil isolasi bakteri dari rizosfer tumbuhan kaktus mendapatkan 10 isolat bakteri. Bentuk sel bakteri didominasi basil dengan keseluruhan termasuk gram positif. Karakteristik morfologi koloni bakteri yang diperoleh memiliki berbagai bentuk dimana koloni bakteri dengan bentuk circular dan irregular menjadi yang terbanyak. Tepi koloni bakteri undulate dan entire menjadi yang terbanyak dengan elevasi yang didominasi flat dengan warna keseluruhan putih dan beberapa memiliki warna cream. Data karakteristik morfologi bakteri dapat dilihat secara lengkap pada tabel 2.

Tabel 2. Ciri morfologi koloni dan sel bakteri rizosfer kaktus

Nama isolat	Morfologi koloni				Pewarnaan Gram	
	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Bentuk Sel	Gram
RK1	Irregular	Undulate	Flat	Putih transparan	Basil	+
RK2	Circular	Entire	Flat	Cream	Basil	+
RK3	Circular	Entire	Flat	Putih	Kokus	+
RK4	Circular	Entire	Flat	Putih transparan	Basil	+
RK5	Rhizoid	Rhizoid	Flat	Putih	Basil	+
RK6	Irregular	Undulate	Raised	Putih	Basil	+
RK7	Filamentous	Filamentous	Flat	Putih	Basil	+
RK8	Irregular	Undulate	Flat	Putih transparan di Tengah	Basil	+
RK9	Irregular	Undulate	Flat	Cream	Basil	+
RK10	Circular	Entire	Convex	Putih	Basil	+

Keterangan: RK (Rizosfer Kaktus)

Pengukuran Pelarutan Fosfat Secara Kualitatif

Pengamatan terhadap zona bening yang terbentuk di sekitar koloni isolat yang ditanamkan pada media Pikovskaya padat, kemampuan bakteri untuk melarutkan fosfat diukur secara kualitatif. Pengukuran zona bening yang menggunakan metode pengukuran indeks

kelarutan fosfat menurut Sharon *et al.*, (2016). Delapan dari sepuluh isolat bakteri yang ditemukan mampu melarutkan fosfat, terbukti dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni isolat pada media Pikovskaya padat. Tabel 3 menampilkan data perhitungan indeks kelarutan fosfat secara kualitatif.

Tabel 3. Indeks kelarutan fosfat isolat bakteri rizosfer

Nama Isolat	Diameter Koloni (mm)	Zona Bening (mm)	IKF	Kategori
RK1	10.00	3.17	1.32	Rendah
RK2	9.67	2.17	1.22	Rendah
RK3	10.83	3.00	1.28	Rendah
RK4	9.17	1.83	1.20	Rendah
RK6	11.33	2.17	1.19	Rendah
RK7	10.83	2.83	1.26	Rendah
RK9	7.67	1.00	1.13	Rendah
RK10	9.00	2.67	1.30	Rendah

Keterangan: IKF: Indeks Kelarutan Fosfat.

Isolat bakteri rizosfer memiliki kemampuan melarutkan fosfat yang berbeda-beda. Secara kualitatif, didapatkan indeks kelarutan fosfat, yang memiliki kisaran kualitas 1,13 hingga 1,32. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat RK1 memiliki indeks kelarutan fosfat terbesar dan terendah berturut-turut dengan nilai indeks 1,32 untuk isolat RK1 dan 1,13 untuk isolat RK9. Berdasarkan penelitian Oksana *et al.*, (2020), pelarutan fosfat oleh bakteri dapat membentuk zona bening akibat aktivitas ekskresi asam organik, yang mengikat ion Ca dari $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ pada medium Pikovskaya dan melepaskan ion fosfat (H_2PO_4) untuk menghasilkan zona berwarna jernih atau transparan.

Zona bening yang terbentuk terjadi karena aktivitas pelarutan fosfat dari yang tidak terlarut menjadi bentuk fosfat terlarut oleh bakteri pelarut fosfat. Pelarutan fosfat dapat juga terjadi karena bakteri menghasilkan enzim fosfatase (Sharma *et al.*, 2013). Mekanisme utama mikroba dalam melarutkan fosfat adalah pelarutan fosfat secara kimia. Aktivitas mikroba dapat melarutkan fosfat dengan menghasilkan

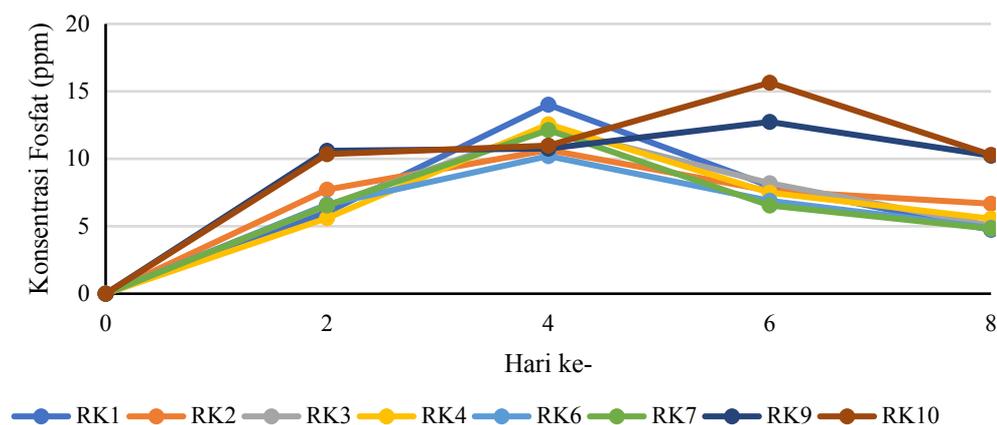
beberapa asam organik seperti asam sitrat, suksinat, glutamate, oksalat, laktat, malat, fumarate, glioksilat, tartrat, dan α -ketobutirat. Peningkatan asam organik akan mengakibatkan penurunan pH sehingga akan menyebabkan pelarutan P yang terikat oleh Ca (Hutagaol *et al.*, 2022).

Pengukuran Pelarutan Fosfat Secara Kuantitatif

Pengukuran kemampuan pelarutan fosfat oleh bakteri secara kuantitatif dilakukan dengan pengukuran absorbansi kelarutan fosfat menggunakan spektrofotometer pada serapan panjang gelombang 430 nm. Data hasil perhitungan menunjukkan hasil yang bervariasi setiap isolat (Tabel 4). Selain itu, fosfat terlarut yang dihasilkan juga berbeda setiap pengukuran dimana sebagian besar isolat (RK1, RK2, RK3, RK4, RK6, RK7) mengalami peningkatan melarutkan fosfat pada inkubasi hari ke 4 dan kembali menurun pada hari ke 6 dan 8, adapun isolat RK9 dan RK10 melarutkan fosfat tertinggi pada hari ke 6 (Gambar 1).

Tabel 4. Hasil pengukuran pelarutan fosfat oleh isolat bakteri secara kuantitatif

Isolat bakteri	Konsentrasi fosfat terlarut (ppm)			
	Hari ke-			
	2	4	6	8
RK1	4.924	12.072	6.672	3.760
RK2	6.432	9.064	6.355	5.497
RK3	5.379	10.546	6.857	4.037
RK4	4.536	10.775	6.225	4.503
RK6	5.445	8.657	5.689	3.889
RK7	5.375	10.387	5.379	3.834
RK9	9.012	9.156	10.930	8.687
RK10	8.786	9.355	13.532	8.738



Gambar 1. Pengukuran pelarutan fosfat oleh bakteri secara kuantitatif.

Gambar 1 menunjukkan bahwa semua isolat mengalami penurunan dalam melarutkan fosfat pada inkubasi hari ke 8. Hasil ini sesuai dengan penelitian Sonia dan Setiawati (2022) yang menunjukkan bahwa aktivitas bakteri pelarut fosfat semakin lama akan semakin menurun dikarenakan sumber energi akan semakin terbatas sehingga menyebabkan populasi bakteri menurun sehingga menyebabkan proses metabolisme sel mengalami penurunan. Selain itu, penelitian oleh Arisna dan Asri (2019) menunjukkan bahwa penurunan jumlah fosfat terlarut disebabkan karena adanya penurunan jumlah bakteri pelarut fosfat yang masih hidup. Hasil ini diperkuat oleh Raharjo *et al* (2007) yang menjelaskan bahwa penurunan kadar fosfat terlarut disebabkan

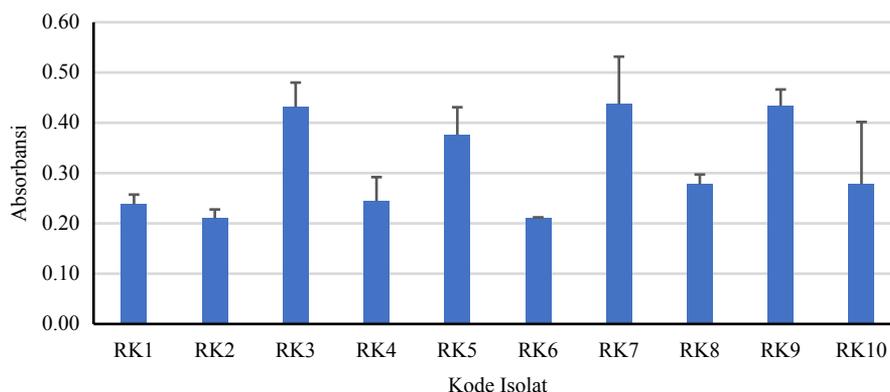
karena penggunaan kembali P terlarut oleh mikroba.

Pengukuran Produksi IAA oleh Isolat Bakteri

Spektrofotometer digunakan untuk mengukur produksi IAA dari 10 isolat bakteri secara kuantitatif. Analisis kuantitatif mengungkapkan bahwa kultur masing-masing isolat secara individual mampu menghasilkan IAA pada konsentrasi yang berbeda ketika L-triptofan (200 ppm) ditampilkan. Dengan nilai 14,25 ppm, isolat RK7 menghasilkan IAA paling banyak, sedangkan isolat RK2 paling sedikit yaitu 5,56 ppm. Tabel 5 menampilkan hasil pengukuran produksi IAA secara kuantitatif semua isolat.

Tabel 5. Hasil Pengukuran Produksi IAA oleh Isolat Bakteri

Kode isolat	Rerata absorbansi	Absorbansi (ppm)
RK1	0.24	6.61
RK2	0.21	5.56
RK3	0.43	14.02
RK4	0.24	6.87
RK5	0.38	11.91
RK6	0.21	5.59
RK7	0.44	14.25
RK8	0.28	8.15
RK9	0.43	14.12
RK10	0.28	8.16



Gambar 2. Rerata absorbansi konsentrasi IAA bakteri rizosfer.

Menurut Asra *et al.*, (2020), isolat bakteri dapat menghasilkan lebih banyak IAA ketika prekursor L-tryptofan hadir dan IAA diproduksi melalui jalur Trp-pathways. Perbedaan produksi IAA oleh bakteri dikarenakan perbedaan kemampuan bakteri dalam menghasilkan IAA sebagai prekursor (Rani *et al.*, 2017). Pada fase stasioner, bakteri dapat menghasilkan banyak hormon IAA, menurut Dewi *et al.* (2015). Pada fase stasioner, bakteri akan menghadapi beberapa keadaan yang mendorong sintesis IAA sehingga terjadi peningkatan. Keadaan ini termasuk pertumbuhan bakteri yang berkurang, pasokan karbon yang terbatas, dan kondisi ambien pH-asam.

Biosintesis IAA oleh bakteri dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti pH, biosintesis IAA lebih banyak ketika pH rendah; Nitrogen, pemberian nitrogen meningkatkan biosintesis IAA; Oksigen, lingkungan aerob akan meningkatkan produksi IAA; dan Waktu inkubasi, semakin lama waktu inkubasi maka IAA yang dihasilkan akan lebih sedikit (Asra *et al.*, 2020). Spaepen dan Vanderleyden (2011) mengemukakan bahwa produksi IAA oleh bakteri juga dibengaruhi oleh letak gen biosintesis auksin (plasmid dan kromosom). Gen

biosintesis auksin pada plasmid lebih banyak menghasilkan IAA dibandingkan gen biosintesis pada kromosom DNA dikarenakan sebagian besar plasmid hadir dalam banyak salinan.

Hasil Uji Biokimia

Uji biokimia pada penelitian meliputi uji TSIA, *simmon citrate*, katalase, fermentasi karbohidrat, motilitas, dan hidrolisis pati. Hasil uji TSIA menunjukkan bahwa semua isolat bereaksi positif. Uji *simmon citrate* menunjukkan hanya isolat RK1, RK2, dan RK4 saja yang bereaksi positif. Hasil uji katalase sebagian besar isolat bereaksi positif dan hanya isolat RK2, RK5, dan RK8 yang memiliki reaksi negatif. Hasil uji hidrolisis pati menunjukkan isolat yang positif pada uji yaitu RK4, RK5, RK6, RK8, RK9, RK10 dan hasil uji negatif pada isolat RK1, RK2, RK3, dan RK7. Hasil uji motilitas menunjukkan bahwa semua isolat bereaksi positif. Kemudian pada uji fermentasi karbohidrat semua isolat menunjukkan hasil positif pada uji glukosa, sukrosa, dan maltose, sedangkan pada uji laktosa hanya RK3 dan RK6 yang bereaksi positif. Data uji biokimia dapat dilihat secara rinci pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Biokimia Isolat Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA

Nama Isolat	Uji Biokimia								
	TSIA	SC	Katalase	Hidrolisis Pati	Motilitas	Glukosa	Maltose	Sukrosa	Laktosa
RK1	+	+	+	-	+	+	+	+	-
RK2	+	+	-	-	+	+	+	+	-
RK3	+	-	+	-	+	+	+	+	+
RK4	+	+	+	+	+	+	+	+	-
RK5	+	-	-	+	+	+	+	+	-

Nama Isolat	Uji Biokimia									
	TSIA	SC	Katalase	Hidrolisis Pati	Motilitas	Glukosa	Maltose	Sukrosa	Laktosa	
RK6	+	-	+	+	+	+	+	+	+	
RK7	+	-	+	-	+	+	+	+	-	
RK8	+	-	-	+	+	+	+	+	-	
RK9	+	-	+	+	+	+	+	+	-	
RK10	+	-	+	+	+	+	+	+	-	

Uji *In Vitro* Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA terhadap Perkecambahan Kacang Panjang (*Vigna sinensis* L.)

Uji *in vitro* dilakukan dengan melakukan pemilihan terhadap bakteri yang akan digunakan sebagai perlakuan. Hasil pemilihan diperoleh 3 isolat yang sesuai dengan kriteria dimana perlakuan 1 (P1) menggunakan isolat RK1 dengan jenis bakteri yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dengan nilai lebih tinggi dan kemampuan menghasilkan IAA dengan nilai yang lebih rendah dibandingkan sebagian besar isolat lain. Sedangkan perlakuan 2 (P2) menggunakan isolat RK5 dengan jenis bakteri

yang tidak memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan memiliki kemampuan menghasilkan IAA dengan nilai yang lebih tinggi dibandingkan sebagian besar isolat lain. Perlakuan 3 (P3) menggunakan isolat RK3 dengan jenis bakteri yang memiliki kemampuan melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA dengan nilai lebih tinggi dibandingkan sebagian besar isolat lain. Uji *in vitro* pengaruh bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA terhadap perkecambahan kacang panjang (*Vigna sinensis* L.) dilakukan pada varietas *Parade tavi* selama masa perkecambahan atau sampai 6 hari setelah tanam.

Tabel 7. Pengaruh Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA Terhadap Perkecambahan *Vigna sinensis* L.

Perlakuan	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)	Berat basah (gr)	Berat kering (gr)
Akuades (kontrol)	16,60 a	8,07 a	0,99 a	0,083 a
Isolat RK1 (P1)	17,30 a	8,23 a	1,10 a	0,093 a
Isolat RK5 (P2)	17,40 a	9,17 a	1,15 a	0,090 a
Isolat RK3 (P3)	17,77 a	10,13 a	1,29 a	0,107 a

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan uji *One Way* ANOVA pada taraf 5%.

Uji *One Way* ANOVA mendapatkan hasil pengaruh bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA tidak berbeda nyata terhadap perkecambahan kacang panjang (tinggi tanaman, panjang akar, berat basah, dan berat kering). Hasil ini sesuai dengan penelitian oleh Suwarni dan Advinda (2021) yang menunjukkan pengaruh pemberian isolat bakteri penghasil IAA dengan konsentrasi 5,37-20,31 ppm berbeda tidak nyata terhadap panjang akar dari tanaman cabai rawit. Tinggi tanaman dan panjang akar juga diduga tidak berbeda nyata dikarenakan semua isolat yang mampu menghasilkan fosfat termasuk dalam kategori rendah dengan rentang zona bening 1,00-3,17 mm. Penelitian oleh Istiqomah *et al.*, (2017) menunjukkan pengaruh bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA berbeda nyata terhadap tinggi tanaman dan panjang akar pada tanaman tomat. Bakteri

pelarut fosfat yang digunakan memiliki kemampuan melarutkan fosfat dengan diameter zona bening berkisar antara 15,0-18,0 mm. dan isolat bakteri yang menghasilkan IAA dengan konsentrasi yang berkisar antara 0,69-1,09 ppm.

Menurut penelitian Hartati *et al.*, (2023), aplikasi bakteri pelarut fosfat tidak mengubah secara substansial berbagai indeks pertumbuhan, termasuk tinggi tanaman, luas daun, jumlah polong/tanaman, berat polong kering/tanaman, dan hasil kedelai kering. Selanjutnya, studi oleh Marom *et al.*, (2017) mengungkapkan bahwa penggunaan PGPR tidak memiliki dampak yang berarti terhadap laju perkembangan benih, hal ini disebabkan cadangan makanan yang terdapat dalam benih cukup untuk perkecambahan. Berdasarkan hasil penelitian Ardiansyah dan Agustina (2021), pemberian dosis PGPR tidak berdampak bagi panjang akar tanaman

dikarenakan sistem perakaran pada tanaman dapat dipengaruhi oleh ketersediaan unsur hara pada media tumbuh. Jika nutrisi yang dibutuhkan tumbuhan tercukupi oleh zat hara yang tersedia maka tumbuhan akan membentuk sistem perakaran yang dangkal sehingga akar tidak memanjang. Selain itu, panjang akar yang diperoleh juga kurang maksimal dikarenakan media tumbuh tanaman yang menggunakan tabung reaksi sehingga unsur hara yang terkandung terbatas serta kurangnya ruang gerak bagi tanaman untuk memanjangkan akarnya. Studi oleh Saridewi *et al.*, (2020) yang menunjukkan bahwa perlakuan isolat bakteri endofit tidak berpengaruh terhadap panjang akar tanaman mendukung hal tersebut karena tanaman memiliki ruang dan nutrisi terbatas yang dapat mereka manfaatkan.

Hasil yang berbeda tidak nyata pada berat basah kacang panjang diduga disebabkan karena panjang akar tanaman tidak berbeda nyata sehingga penyerapan nutrisi pada setiap tanaman hampir sama. Pernyataan ini diperkuat oleh Rosyida dan Nugroho (2017) yang menyatakan bahwa PGPR dapat meningkatkan berat basah dan berat kering tanaman dikarenakan inokulasi PGPR dapat mempengaruhi perakaran tanaman. Hasil berat basah tanaman mengacu pada fungsi akar dalam menyerap air, mineral, serta berbagai unsur penting untuk menunjang pertumbuhan tanaman (Gardner *et al.*, 1991). Selain itu, isolat bakteri yang digunakan memiliki daya larut fosfat kategori rendah, sehingga P terlarut yang dapat diakses dalam media yang dapat diserap oleh tanaman juga rendah. Menurut Widyawati dalam Hartati *et al.*, (2023), produksi asam organik oleh bakteri bergantung pada metabolisemenya yang dipengaruhi oleh aktivitas enzim. Akibatnya, bakteri dengan sekresi enzim yang buruk dapat menghasilkan asam organik yang dapat membuat P kurang larut. Berat basah tanaman juga dipengaruhi oleh kandungan nutrisi media. Proses fisiologis dan metabolisme tanaman dapat dirangsang dengan meningkatkan penyerapan nutrisi fosfor, yang akan menyebabkan peningkatan baik produk fotosintesis maupun senyawa organik lain yang dihasilkan oleh metabolisme tanaman (Salisbury dan Ross, 1995).

Menurut Bhaskoro *et al.*, (2015), berat basah tanaman akan berbanding lurus dengan berat kering tanaman, semakin tinggi berat basah

suatu tanaman, semakin tinggi pula berat kering tanaman tersebut. Pernyataan tersebut sesuai dengan hasil yang didapatkan yang menunjukkan bahwa hasil berat basah dan berat kering tidak berbeda nyata. Selain itu, perkembangan akar yang tidak berbeda nyata juga mempengaruhi berat kering tanaman yang membuat jumlah unsur hara yang dapat diserap juga berdampak pada berat kering. Temuan penelitian Ningsih *et al.*, (2018) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan pada berat kering total tanaman yang diinokulasi PGPR dan kontrol, mendukung pernyataan ini. Dihipotesiskan bahwa hal ini karena kesamaan akumulasi bahan kimia organik yang dihasilkan oleh tanaman. Menurut Yuniarti *et al.* (2022), kemampuan tumbuhan dalam menyerap unsur hara untuk menunjang fotosintesis inilah yang menentukan berat keringnya. Selain itu, menurut Purwanto *et al.* (2017), perkembangan akar berdampak pada berat kering tanaman.

Kesimpulan

Hasil penelitian mendapatkan 8 isolat bakteri yang dapat melarutkan fosfat dalam kategori rendah sekaligus menghasilkan IAA dan 2 isolat lainnya hanya menghasilkan IAA. Pelarutan fosfat secara kuantitatif menunjukkan fosfat terlarut tertinggi pada inkubasi hari ke 4 dan 6. Produksi IAA tertinggi (14,25 ppm) dihasilkan oleh isolat bakteri rizosfer dengan kode isolat RK7. Hasil analisis menunjukkan bahwa bakteri pelarut fosfat dan penghasil IAA memiliki pengaruh terhadap perkecambahan kacang panjang walaupun tidak berbeda nyata.

Ucapan Terima Kasih

Penulis sampaikan terima kasih atas dukungan teknis dan kerjasamanya kepada ketua dan asisten lab di laboratorium Mikrobiologi dan Kimia FKIP Universitas Mataram.

Referensi

Alim, N., Simarmata M. M. T., Gunawan B., Purba T., Juita N., Herawati J., Firgiyanto R., Junairiah., & Inayah A. N. (2022). *Pengelolaan Lahan Kering*. Medan: Yayasan Kita Menulis. ISBN: 978-623-342-459-2.

- Ardiansyah, I., & Agustina N. A. (2021). Respon Pemberian PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) dengan Dosis dan Lama Perendaman Terhadap Pertumbuhan *Mucuna bracteate*. *Jurnal Insitusi Politeknik Ganesha Medan*. 4 (1): 227-235. DOI: 10.33395/juripol.v4i1.11036.
- Arisna, T. S. W., & Asri M. T. A. (2019). Potensi Isolat Bakteri Endofit Akar Tanaman Bawang Merah (*Allium ascalonium*) sebagai Bakteri Pelarut Fosfat. *Lentera Bio*. 8 (3): 260-267. http://ejournal.unesa.ac.id/index.php/lentera_rabio.
- Asra, R., Samarlina R. A., & Silalahi M. (2020). *Hormon Tumbuhan*. Jakarta: UKI Press. ISBN 978 623 7256 45 8.
- Bhaskoro, A. W., Kusumarini N., & Syekhfani. (2015). Efisiensi Pemupukan Nitrogen Tanaman Sawi pada Inceptisol melalui Aplikasi Zeolit Alam. *Jurnal Tanah dan Sumberdaya Lahan*. 2 (2): 219-226. <https://jtsl.ub.ac.id/index.php/jtsl/article/view/132>.
- Chaudhary, P., Singh S., Chaudhary A., Sharma A., & Kumar G. (2022). Overview of Biofertilizers in Crop Production and Stress Management for Sustainable Agriculture. *Front. Plant Sci*. 13: 1-21. <https://doi.org/10.3389/fpls.2022.930340>.
- Dewi, T. K., Arum E. S., Imamuddin H., & Antonius S. (2015). Karakterisasi Mikroba Perakaran (PGPR) Agen Penting Pendukung Pupuk Organik Hayati. *Prosiding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia*. 1 (2): 289-295. DOI: 10.13057/psnmbi/m010220.
- Gardner, F. P., Pearce R. B., & Mitchell R. L. (1991). *Fisiologi Tanaman Budidaya*. Penerjemah: Herawati Susilowati. Jakarta: UI Press.
- Hartati, R. D., Suryaman M., & Saepudin A. (2023). Pengaruh Pemberian Bakteri Pelarut Fosfat pada berbagai pH Tanah terhadap Pertumbuhan dan Hasil Kedelai (*Glycine max* (L.) Merr). *Journal of Agrotechnology and Crop Science*. 1 (1): 26-34. <https://jurnal.unsil.ac.id/index.php/jacrops/article/view/2782/1647>.
- Hutagaol, D., Nuraida., & Hariani F. (2022). *Mikroorganisme Pelarut Fosfat (Kajian Ketersediaan P, Pertumbuhan, dan Produksi Padi Sawah)*. Bogor: Guepedia. ISBN: 978-623-407-211-2.
- Istiqomah, Aini L. Q., & Abadi A. L. (2017). Kemampuan *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas fluorescens* dalam Melarutkan Fosfat dan Memproduksi Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) untuk Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Tomat. *Buana Sains*. 17 (1): 75-84. DOI: <https://doi.org/10.33366/bs.v17i1.580>.
- Jaya, I. N. S., Elias., Wijayanto N., Achmadi S. S., Mardiasuti A., Wahyudi I., Hadi U. K., & Chaniago I. A. (2017). *Teknologi dan Pemanfaatan Sumberdaya Hutan dan Lingkungan untuk Mencapai Sistem Pertanian Berkelanjutan*. Bogor: IPB Press. ISBN: 978-602-440-329-4.
- Joko, T., Istiqomah D., Windari U., & Hardini P. A. (2015). Pengaruh PGPR terhadap Pertumbuhan Planlet Jagung dan Antagonismenya terhadap Jamur Terbawa Benih secara *In Vitro*. *Seminar Nasional Hasil Penelitian Pertanian 2015, Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada*. https://www.researchgate.net/publication/316189887_Pengaruh_PGPR_terhadap_Pertumbuhan_Planlet_Jagung_dan_Antagonismenya_terhadap_Jamur_Terbawa_Benih_secara_In_Vitro.
- Kavamura, V. N., Santos S. N., Silva J. L. D., Parma M. M., Avila L. A., Visconti A., Zucchi T. D., Taketani R. G., Andreote F. D., & Melo I. S. D. (2013). Screening of Brazilian Cacti Rhizobacteria for Plant Growth Promotion under Drought. *Microbiological Research*. 168 (4): 183-191. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.micres.2012.12.002>.
- Kumar, S., Diksha, Sindhu S. S., & Kumar R. (2022). Biofertilizers: An Ecofriendly Technology for Nutrient Recycling and Environmental Sustainability. *Current Research in Microbial Sciences*. 3: 1-26. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100094>
- Maghfoer, M. D. (2018). *Monograf Teknik Pemupukan Terung Ramah Lingkungan*.

- Malang: UB Press. ISBN: 978-602-432-511-4.
- Marom, N., Rizal F. N. U., & Bintoro M. (2017). Uji Efektivitas Waktu Pemberian dan Konsentrasi PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) Terhadap Produksi dan Mutu Benih Kacang Tanah (*Arachis hypogaea* L.). *Journal of Applied Agricultural Sciences*. 1 (1): 174-184. DOI: 10.25047/agriprima.v1i2.43.
- Ningsih, Y. F., Armita D., & Maghfoer M. D. (2018). Pengaruh Konsentrasi dan Interval Pemberian PGPR Terhadap Pertumbuhan dan Hasil Buncis Tegak (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Produksi Tanaman*. 6 (7): 1603-1612. <http://protan.studentjournal.ub.ac.id/index.php/protan/article/viewFile/817/840>.
- Oksana, Irfan M., Fianiray A. R., & Zam S. I. (2020). Isolasi dan Identifikasi Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Ultisol di Kecamatan Rumbai, Pekanbaru. *Agrotech. Res. J.* 4 (1): 22-25. DOI: <https://doi.org/10.20961/agrotechresj.v4i1.36063>.
- Purwanto, Yuyun Y., Sumadi, & Tualar S. (2017). Nitrogenase Activity and IAA Production of Indigenous Diazotroph and Its Effect on Rice Seedling Growth. *Agrivita*, 39 (1): 31-37. DOI: <http://doi.org/10.17503/agrivita.v39i1.653>.
- Raharjo, B., Supriyadi A., & Agustina D. K. (2007). Pelarutan Fosfat Anorganik oleh Kultur Campur Jamur Pelarut Fosfat Secara *in Vitro*. *Jurnal Sains dan Matematika*. 15 (2): 45-54. <https://ejournal.undip.ac.id/index.php/sm/article/view/3262>.
- Rani, I. M., Lestari P. R., Rahmayani D. E., Asan M., & Astriani M. (2017). Uji Bakteri Pelarut Fosfat dan Penghasil IAA pada Mol Buah Bintaro (*Cerbera manghas* L.). *Jurnal Florea*. 4 (2): 11-21. DOI: <http://doi.org/10.25273/florea.v4i2.1752>.
- Rosyida., & Nugroho A. S. (2017). Pengaruh Dosis Pupuk Majemuk NPK dan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) terhadap Bobot Basah dan Kadar Klorofil Daun Tanaman Pakcoy (*Brassica rapa* L.). *Bioma*. 6 (2). 42-56. DOI: <https://doi.org/10.26877/bioma.v6i2.1716>.
- Salisbury F. B., & Ross C. W. (1995). *Fisiologi Tumbuhan, Biokimia Tumbuhan, jilid 2*. Penerjemah: Lukman, D.R., dan Sumaryono. Bandung: ITB Press. ISBN: 9798591275.
- Santos, A. F. J., Morasi J. S. D., Miranda J. S., Moreira Z. P. M., Feitoza A. F. A., Leite J., & Fernandez-Junior P. I. (2020). Cacti-Associated Rhizobacteria from Brazilian Caatinga Biome Induce Maize Growth Promotion and Alleviate Abiotic Stress. *Revista Brasileira de Ciências Agrárias*. 15 (3): 1-10. DOI:10.5039/agraria.v15i3a8221.
- Saridewi, L. P., Prihatiningsih N., & Djatmiko H. A. (2020). Karakterisasi Bokimia Bakteri Endofit Akar Terung Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman dan Pengendali Penyakit Layu Bakteri in planta. *Jurnal Proteksi Tanaman Tropis*. 1 (1): 1-8. DOI: <https://doi.org/10.19184/jppt.v1i1.15579>.
- Seksi Integrasi Pengolahan dan Diseminasi Statistik (SIPDS). (2020). *Kecamatan Batulayar dalam Angka 2020*. BPS Kabupaten Lombok Barat. ISBN: 978-602-6456-53-3.
- Sharma, S. B., Sayyed R. Z., Trivedi M. H., & Gobi T. A. (2013). Phosphate Solubilizing Microbes: Sustainable Approach for Managing Phosphorus Deficiency in Agricultural Soils. *Springer Plus*. 2 (258): 1-14. <http://www.springerplus.com/content/2/1/587>.
- Sharon, J. A., Hathwaik L.T., Glenn G.M., Imam S. H., & Lee C. C. (2016). Isolation of Efficient Phosphate Solubilizing Bacteria Capable of Enhancing Tomato Plant Growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 16 (2): 525-536. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-95162016005000043>.
- Silva, F. G. N., & Vidor C. (2000). Solubilização de Fosfato por Microrganismos na Presença de Fontes de Carbono. *Rev Bras Cienc Solo*. 24: 311-319. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832000000200008>.

- Sonia, S. V., & Setiawati T. C. (2022). Aktivitas Bakteri Pelarut Fosfat Terhadap Peningkatan Ketersediaan Fosfat pada Tanah Masam. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*. 15 (1):44–53. DOI: <https://doi.org/10.21107/agrovigor.v15i1.13449>.
- Soumare, A., Boubekri K., Lyamlouli K., Hafidi M., Ouhdouch Y., & Kousini L. (2020). From Isolation of Phosphate Solubilizing Microbes to Their Formulation and Use as Biofertilizers: Status and Needs. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*. 7 (425): 1-14. DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2019.00425>.
- Spaepen, S., & Vanderleyden J. (2011). Auxin and plant-microbe interactions. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 1-13. DOI: 10.1101/cshperspect.a001438.
- Suwarni, L., & Advinda L. (2021). Deteksi IAA Pada Pseudomonad Fluoresen Serta Pengaruhnya Terhadap Panjang Akar Kecambah Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Prosiding SEMNAS BIO 2021 Universitas Negeri Padang*. <https://semnas.biologi.fmipa.unp.ac.id/index.php/prosiding/article/download/316/135/604>.
- Vasanthakumari, R. (2007). *Textbook of Microbiology*. New Delhi: BI Publications Pvt Ltd. ISBN-13: 978-81-7225-234-2.
- Yuniarti, Rokhminarsih E., & Purwanto (2022). Uji Kemampuan Bakteri Diazotrof Asal Perakaran Bawang Merah dalam Mendukung Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Bawang Merah. *Jurnal Kultivasi*. 21 (2): 181-189. DOI: <https://doi.org/10.24198/kultivasi.v21i2.37708>.