

**PEMANFAATAN BAKTERI PELARUT FOSFAT PENGINDUKSI
HORMON IAA (*Indol Acetic Acid*) UNTUK PENINGKATAN
PERTUMBUHAN KEDELAI (*Glycine max*)**

Desak Putu Sudarmini¹, I Made Sudana^{1*}, I Putu Sudiarta¹, Gede Suastika²

¹Program Studi Bioteknologi Pertanian, Universitas Udayana

²Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor

*)Corresponding author at: Jl. PB. Sudirman Denpasar, Bali, Indonesia

E-mail: imadesudana74@yahoo.com

Abstract

Soybean is one of the agricultural commodities that are needed to fulfil food nutrients of Indonesian people. The low production of this commodity in Indonesia has not yet been able to meet the high demand for soybean that reaches 2.8 million tons per year, so that the Indonesian government still import soybeans at the amount of 2.26 million tons annually. The low production of soybeans in Indonesia is due to several factors, one of which is the expensive price of chemical fertilizers. The use of rhizobacteria as bio-controlling agents can increase the availability of nutrients as well as crop production. Phosphate solubilizing bacteria are rhizobacteria that have the capacity to solubilize bound phosphate as well as trigger the growth hormone IAA that is the main hormone that controls various physiological processes in plants. The current study aimed to investigate whether isolates derived from rhizospheres of Leguminosae plants can induce IAA hormone and foster the vegetative growth of soybeans.

The research results showed that five out of nine isolates of the phosphate solubilizing bacteria are able to induce IAA hormone and foster the vegetative growth of soybeans. Isolate treatment that showed the best impact toward soybean growth was identified molecularly through PCR. The result of RHC6 isolate identification shows a DNA ladder size of 1300bp which is suitable with the primer used. Based on the phylogenetic analysis conducted, nucleotide sequence of RHC6 isolate from Bali has a high similarity (97%) to and a low genetic distance (0.018) from *Brevundimonas diminuta* isolate from the US.

Keywords: phosphate solubilizing bacteria, IAA hormone, soybean.

1. Pendahuluan

Tanaman kedelai (*Glycine max*) merupakan salah satu komoditi pertanian yang diperlukan untuk mencukupi kebutuhan gizi pangan masyarakat Indonesia. Kebutuhan kedelai di Indonesia setiap tahun selalu meningkat seiring dengan pertambahan penduduk dan perbaikan pendapatan per kapita, namun produksi kedelai di Indonesia masih tergolong rendah dan belum dapat memenuhi kebutuhan konsumen. Rendahnya produksi kedelai di Indonesia dipengaruhi oleh

beberapa faktor, salah satunya adalah mahalny harga pupuk kimia sehingga petani sulit untuk membeli pupuk kimia dan menyebabkan petani tidak dapat memupuk tanaman kedelai secara maksimal, Penggunaan pupuk kimia secara terus menerus dengan dosis yang berlebihan akan berdampak buruk terhadap lingkungan dan keberadaan mikroorganism yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman. Oleh karena itu perlu dilakukan usaha-usaha untuk peningkatan budidaya kedelai tanpa merusak lingkungan namun mampu meningkatkan produksi kedelai, salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk meningkatkan produksi kedelai yaitu dengan aplikasi teknologi alternatif yang murah dan ramah lingkungan dengan memanfaatkan mikroorganism sebagai agen biokontrol. Mikroorganism yang sudah banyak dilaporkan mampu sebagai agen biokontrol adalah rhizobakteria atau dikenal sebagai *plant growth promoting rhizobacteria* (PGPR).

Bakteri pelarut fosfat merupakan salah satu rhizobakteri yang mempunyai peranan penting dalam meningkatkan ketersediaan P di dalam tanah bagi tanaman dan mempunyai kemampuan dalam menghasilkan zat pengatur tumbuh seperti IAA (*Indole Acetic Acid*) (Rao, 1994). Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa yang dalam jumlah sedikit dapat berpengaruh besar terhadap pertumbuhan dan produksi tanaman. Zat pengatur tumbuh mampu diproduksi oleh mikroorganism tertentu dan dapat dihasilkan oleh tanaman yang dapat mempengaruhi proses fisiologis. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah isolat Bakteri pelarut fosfat yang diisolasi dari rizosfer tanaman Leguminosae mampu menginduksi hormon IAA dan meningkatkan pertumbuhan vegetatif kedelai.

2. Metode

2.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Oktober 2016 sampai dengan Juni 2017. Isolat rhizobakteri yang digunakan adalah isolat yang di isolasi dari perakaran tanaman leguminosae yang tumbuh disekitar Kabupaten Badung, Buleleng, Gianyar dan Tabanan. Identifikasi secara molekuler terhadap BPF yang menunjukan pertumbuhan terbaik dilakukan di Laboratorium Virologi Tumbuhan, Departemen Proteksi Tanaman, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

2.2 Isolasi Bakteri Pelarut Fosfat dari Rizosfer Tanaman Legum

Sampel diambil dari rizosfer beberapa jenis tanaman leguminosae. Tanah pada daerah perakaran diambil sebanyak 50–100 g. Isolasi rizobakteri dari rizosfer menggunakan metode Quintao (2013). Mikroba pelarut fosfat yang telah diremajakan selanjutnya dilakukan uji kemampuan melarutkan fosfat dalam cawan petri berisi media Pikovskaya padat steril.

2.3 Uji Kemampuan Bakteri Pelarut Fosfat

Uji kemampuan pelarutan fosfat dilakukan dengan menggunakan media Pikovskaya

Agar (0,25 g ekstrak yeast; 5 g dekstroza; 2,5 g $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; 0,25 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 0,1 g KCl;

0,05 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,005 g $\text{MnSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,005 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 10 g agar; 1000 mL air destilata). Bakteri pelarut fosfat yang telah diremajakan diinokulasi pada media Pikovskaya, secara aseptis sebanyak 1 ose kemudian diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 hari dan diamati terbentuknya zona bening. Kemampuan pelarutan dihitung melalui rasio antara diameter zona bening dengan diameter koloni bakteri (Berraqueiro *et al.*, 1976). Kemampuan pelarutan fosfat dapat diklasifikasikan sebagai berikut: aktivitas pelarutan rendah (*low solubilization*) ($E < 2$), aktivitas pelarutan sedang (*average solubilization*) ($2 < E < 3$) dan aktivitas pelarutan tinggi (*high solubilization*) ($E > 3$). Zona bening yang terdapat di sekeliling koloni diamati dan diukur indeks pelarutan fosfatnya berdasarkan rumus Silva

Filho (2002), :

$$\frac{\text{Diameter zona bening} - \text{diameter koloni}}{\text{Diameter koloni}}$$

2.4 Uji kemampuan Isolat Rizobakteri Dalam Menghasilkan IAA

Penelitian ini menguji sembilan isolat yang diambil dari berbagai akar tanaman leguminose di beberapa daerah. Isolat tersebut meliputi RHC1 (undis 4), RHC2 (undis 1), RHC3 (undis 3), RHC4 (undis2), RHC5 (bangkoang), RHC6 (kelor), RHC7 (kara benguk), RHC8 (lamtoro), dan RHC8 (karo). Beberapa isolat tersebut merupakan isolat koleksi dari Laboratorium Penyakit Tumbuhan. Kemampuan masing-masing isolat rizobakteri dalam menghasilkan IAA dianalisis dengan menggunakan metode Wahyudi *at al.*, (2011) dan Rahman *et al.*, (2010). Isolat rizobakteri ditumbuhkan selama 48 jam dengan medium NB. Untuk memacu sintesis IAA, ke dalam media NB ditambahkan asam amino L- trptopan 1 mM. Kultur rizobakteri disentrifugasi dengan kecepatan $1610 \times g$ selama 30 menit, kemudian supernatant dipisahkan dari endapan bakteri, disaring dengan kertas saring Millipore (0,45 mm), dan kandungan IAA dianalisis. Kandungan IAA dalam filtrate kultur bakteri dideteksi dengan menggunakan pereaksi Salkowski. Pereaksi Salkowski (1 ml 0,5 M FeCl_3 dan 49 ml

35 % HClO_4). Sebanyak 100 μl filtrate kultur rizobakteri dimasukkan ke dalam sumuran *Microplate* ELISA (ThermoFisher Scientific) selanjutnya *Microplate ELISA* diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu kamar selama 30 menit. Penentuan Konsentrasi IAA dalam filtrate kultur rizobakteri dilakukan berdasarkan metode Kromatografi Gas – Spektroskopi Mass (KG2-SM) yaitu berdasarkan perbandingan kadar senyawa IAA dalam standar pada total luas area tertentu

sehingga diperoleh konsentrasi relatif senyawa IAA yang ada dalam sampel. Senyawa IAA standar yang digunakan sebesar 0,05 mg/ml (50 µg/ml).

2.5 Identifikasi spesies rizobakteri pelarut fosfat terbaik

Satu isolat rizobakteri yang menunjukkan kemampuan paling baik dalam memicu ketahanan terhadap penyakit SMV diidentifikasi untuk menentukan spesies. Ekstraksi total DNA dilakukan dengan *GeneJET Genomic DNA Purification Kit* Thermo. Gen 16S rRNA diamplifikasi dengan PCR menggunakan pasangan primer 16S 63F (5'-CAG GCC TAA CAC ATG CAA GTC-3') dan 1387R (5'-GGG CGG WGT GTA CAA GGC-3') (Marchesi *et al.*, 1998). Amplifikasi DNA menghasilkan fragmen DNA berukuran ±1.300 pb. Selanjutnya dilakukan sekuensing 16 RNA dan analisis sekuen DNA. Data yang berasal dari *GenBank* kemudian dilakukan analisis kesamaan menggunakan program *BioEdit* v.7.0.5. Analisis filogenetika menggunakan program MEGA v.6.06 berdasarkan algoritma *Neighbor Joining* dengan bootstrap 1000 kali.

2.6 Analisis Data

Data dianalisis dengan analisis sidik ragam atau ANOVA. Apabila pada analisis keragaman nilai $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ atau peluang (p) $F > 0,05$; maka $H_0 : T_i = 0$ diterima yang berarti terdapat perbedaan pengaruh tidak nyata antar perlakuan yang dicoba; dan sebaliknya. Apabila terdapat perbedaan nyata, dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) pada taraf 5%.

3. Hasil dan Pembahasan

3.1 Pengaruh rizobakteri terhadap pertumbuhan dan hasil tanaman kedelai

Hasil uji efektivitas isolat-isolat terhadap pertumbuhan tanaman kedelai menunjukkan perbedaan yang sangat nyata antara tanaman yang diberi perlakuan isolat rizobakteri dengan tanaman yang tidak diberi perlakuan. Isolat RHC6 (isolat dari perakaran tanaman kelor daerah Gianyar) memberikan respon terbaik terhadap berbagai variabel pertumbuhan tanaman kedelai

Tabel 1. Rata-rata Nilai Pengaruh Isolat Rhizobakteri terhadap Tinggi Tanaman, Jumlah Daun, Cabang dan Kandungan Klorofil pada Kedelai Umur Lima Minggu Tinggi

| Jumlah | | Tanaman (cm) | Daun (Helai) | Jumlah | Klorofil (SPAD) | | | | |
|--------|---------|-----------------|-----------------|--------|---------------------|------|----|------|----|
| 1 | Kontrol | 46,78 | bc | 11,00 | b | 2,33 | b | 31,4 | ab |
| 2 | RHC1 | 48,33 | b | 11,00 | b | 2,00 | b | 33,2 | ab |
| 3 | RHC2 | 51,84 | a | 12,25 | a | 2,67 | ab | 40,1 | a |
| 4 | RHC3 | 46,6 | bc | 11,08 | b | 2,33 | b | 32,6 | ab |
| 5 | RHC4 | 50,86 | b | 11,83 | a | 3,00 | a | 42,5 | a |
| 6 | RHC5 | 50,63 | b | 11,25 | b | 2,00 | ab | 35,9 | ab |
| 7 | RHC6 | 53,82 | a | 12,67 | a | 3,00 | a | 45,8 | a |
| 8 | RHC7 | 51,56 | a | 12,08 | a | 2,67 | b | 37,8 | b |
| 9 | RHC8 | 47,22 | b | 11,00 | b | 2,00 | ab | 33,8 | b |
| 10 | RHC9 | 46,91 | bc | 11,00 | b | 2,00 | ab | 32,5 | ab |

Keterangan : Angka - angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan perbedaan tidak nyata pada Uji Duncant taraf 5%

Bakteri pelarut fosfat berpengaruh sangat nyata terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman kedelai yang meliputi tinggi, jumlah daun, kandungan klorofil dan jumlah cabang. Isolat RHC6 menunjukkan persentase pertumbuhan tertinggi jika dibandingkan dengan perlakuan isolat lainnya, kemudian diikuti dengan isolat RHC2 dan RHC7. Hal ini menunjukkan bahwa isolat rhizobakteri yang diinokulasikan pada tanaman kedelai memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan kedelai sehingga mampu meningkatkan pertumbuhan kedelai jika dibandingkan dengan tanaman kontrol yang tanpa diberikan perlakuan isolat rhizobakteri.

Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang memiliki kemampuan sebagai *biofertilizer* dengan cara melarutkan fosfat yang masih terjerat didalam tanah seperti unsur Fe, Al, Ca dan Mg, sehingga unsur-unsur tersebut dapat dilarutkan oleh bakteri selanjutnya menjadi unsur yang tersedia bagi tanaman. Tanaman yang diinokulasikan dengan bakteri pelarut fosfat telah diteliti oleh Toro *et al.*, (1996), hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa simbiosis antara tanaman dengan bakteri pelarut fosfat tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan dan serapan nutrisi tanaman.



Kontrol RHC2 RHC6 RHC7

Gambar 1. Perbandingan tanaman Kontrol dengan tiga tanaman yang diberikan perlakuan isolat RHC2, RHC6 dan RHC7 pada umur lima minggu yang menunjukkan pertumbuhan terbaik diantara perlakuan isolat lainnya.

Bakteri pelarut fosfat juga memiliki kemampuan merangsang hormon-hormon pertumbuhan tanaman seperti IAA yang merupakan hormon utama yang mengatur aktivitas fisiologi pada tanaman. Perlakuan rhizobakteri meningkatkan konsentrasi IAA dalam akar tanaman kedelai, Rhizobakteri yang sudah berkolonisasi di akar mengubah asam amino tryptopan yang terkandung dalam eksudat akar kedelai menjadi senyawa IAA. Peningkatan konsentrasi IAA dalam akar akan meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan akar sehingga penyerapan unsur hara menjadi lebih maksimal untuk pertumbuhan tanaman kedelai. IAA juga berperan dalam pembelahan dan pemanjangan sel, salah satunya pada sel-sel batang dan tunas pada pertumbuhan vegetatif, sehingga mampu meningkatkan panjang batang pada suatu tanaman (Talanca, 2010). Peningkatan jumlah akar akan meningkatkan koinokulasi Rhizobium sehingga meningkatkan penyerapan unsur hara terutama unsur utama nitrogen meningkatkan, protein, asam amino, amida, asam nukleat, nukleotida, dan klorofil. Unsur nitrogen akan meningkatkan warna hijau dan dapat mendorong pertumbuhan batang dan daun (Olaniyi *et al.*, 2008).

3.2 Kemampuan Rhizobakteri Pelarut Fosfat Dalam Memacu Hormon Tumbuh IAA Pada

Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Kedelai

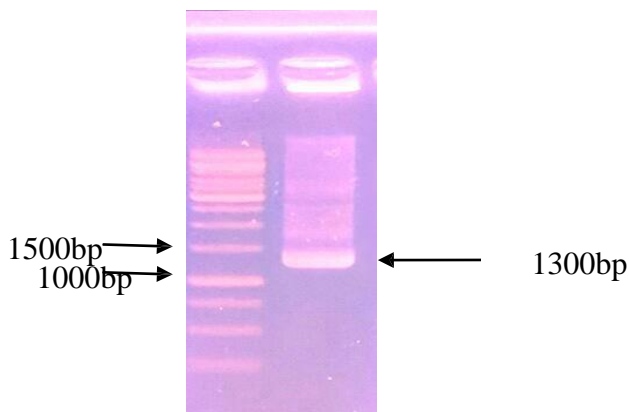
Hasil pengujian terhadap kemampuan beberapa isolat bakteri pelarut fosfat dalam memacu hormon IAA pada pertumbuhan vegetatif tanaman kedelai menunjukkan bahwa terdapat beberapa isolat mampu menghasilkan hormon IAA. Isolat RHC2, RHC4, RHC5, RHC6, RHC7 menunjukkan hasil yang positif dapat menghasilkan hormon IAA, sedangkan isolat RHC1, RHC3, RHC8, dan RHC9 menunjukkan hasil yang negatif. Isolat yang mengalami perubahan

warna bening menjadi warna merah muda menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu menghasilkan hormon auksin. Sedangkan pada isolat yang tidak mengalami perubahan warna menunjukkan isolat tersebut tidak menghasilkan hormon IAA. Isolat yang mampu menghasilkan IAA secara kualitatif akan berwarna merah muda karena adanya interaksi antara IAA dengan Fe membentuk senyawa kompleks $[Fe_2(OH)_2(IA)_4]$, Interaksi tersebut terjadi pada suasana asam (Kovacs 2009). Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, respon tanaman terhadap IAA yang dihasilkan mikroba berbeda-beda tergantung spesies tanaman dan konsentrasi IAA yang dilepaskan (Patten dan Glick, 2002).

3.3. Identifikasi Spesies Rhizobakteri Pelarut Fosfat Secara Molekuler

Isolat rhizobakteri yang diidentifikasi adalah isolat yang menunjukkan persentase pertumbuhan tertinggi pada fase vegetatif tanaman kedelai yaitu isolat RHC6. Deteksi dengan menggunakan PCR terhadap isolat RHC6 memberikan hasil pita DNA yang sangat jelas dan produk PCR sesuai dengan primer 16S 63F dan 1387 R.

M RHC6



Gambar 2. Hasil amplifikasi PCR dari gen 16S rRNA menggunakan primer 16S pada gel agarose.

(M = marker 1000 bp (Promega), RHC6 = hasil PCR rhizobakteri isolat RHC6).

Deteksi menggunakan PCR terhadap sampel isolat RHC6 yang menunjukkan persentase tertinggi pada pertumbuhan vegetatif tanaman kedelai menunjukkan hasil pita DNA berukuran 1300 bp sesuai dengan primer yang digunakan. Pengujian tingkat homologi antar isolat menunjukkan bahwa isolat RHC6 Bali (Gianyar) mempunyai kesamaan sebesar 97% dengan isolat *Brevundimonas diminuta* berasal dari USA (BVR4). Isolat RHC6 Bali jika dibandingkan dengan isolat *P. diminuta* asal USA memiliki tingkat homologi yang lebih rendah dibandingkan dengan Isolat *B. diminuta* dan *B. naejangsanensis* yaitu 86%.

Isolat RHC6 Bali dengan isolat *B. diminuta* yang bersasal dari USA memiliki nilai jarak genetik yang paling rendah yaitu 0,018. Nilai tersebut menunjukkan bahwa tingkat kedekatan antara Isolat RHC6 Bali dengan *B. diminuta* yang bersasal dari USA sangat tinggi. Tingginya kedekatan antara isolat RHC6 Bali dengan isolat *B. diminuta* menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut memiliki kesamaan gen yang tinggi.

Tabel 2. Homologi isolat RHC6 dengan sekuen homolognya yang ada di Genbank

| NO ISOLAT | HOMOLOGI | | | | | | | | | |
|-----------|----------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| | GI | | | | | | | | | |
| RHC6 | ID | | | | | | | | | |
| BVR4 | 97% | ID | | | | | | | | |
| BVR3 | 96% | 97% | ID | | | | | | | |
| BVR2 | 96% | 99% | 97% | ID | | | | | | |
| BVR1 | 96% | 99% | 98% | 98% | ID | | | | | |
| BVR | 96% | 99% | 97% | 99% | 99% | ID | | | | |
| PSD | 86% | 87% | 89% | 86% | 87% | 86% | ID | | | |
| BVRN1 | 94% | 97% | 97% | 97% | 96% | 97% | 87% | ID | | |
| BVRN2 | 93% | 96% | 96% | 96% | 95% | 96% | 88% | 99% | ID | |
| ECH | 77% | 77% | 79% | 77% | 77% | 77% | 71% | 78% | 77% | ID |

Keterangan: RHC6, Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Gianyar; BVR4, isolat *Brevundimonas diminuta* USA; BVR3, isolat *B. diminuta* USA; BVR2, isolat *B. diminuta* France; BRV1, isolat *B. diminuta* USA; BRV, isolat *B. diminuta* USA; PDS, *Pseudomonas diminuta* USA; BVRN1, isolat *B. naejangsanensis* USA; BVRN2, isolat *B. naejangsanensis* China; ECH, isolat *Escherichia coli* sebagai outgroup.

Isolat RHC6 Bali jika dibandingkan dengan isolat *B. diminuta* dari USA (BRV, BRV1 dan BRV3) dan France (BRV2) memiliki nilai jarak genetik dengan kisaran nilai diantara 0,021-0,023. Jarak genetik yang dimiliki antara Isolat RHC6 Bali dengan isolat *P. diminuta* yang berasal dari USA yaitu 0,020. Nilai jarak genetik yang besar juga dihasilkan Isolat RHC6 Bali dibandingkan dengan isolat *B. naejangsanensis* (BVRN1 dan BVRN2) yaitu 0.031.

Tabel 3. Jarak genetik Isolat RHC6 dengan sekuen homolognya yang ada di Genbank

| NO | Jarak Genetik |
|----|---------------|
|----|---------------|

| ISOLAT | 12 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 |
|--------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| RHC6 | | | | | | | | |
| BVR4 | 0.018 | | | | | | | |
| BVR3 | 0.020 | 0.002 | | | | | | |
| BVR2 | 0.021 | 0.003 | 0.006 | | | | | |
| BVR1 | 0.023 | 0.005 | 0.006 | 0.008 | | | | |
| BVR | 0.021 | 0.003 | 0.002 | 0.007 | 0.005 | | | |
| PSD | 0.020 | 0.002 | 0.001 | 0.005 | 0.007 | 0.002 | | |
| BVRN1 | 0.031 | 0.013 | 0.014 | 0.016 | 0.016 | 0.013 | 0.013 | |
| BVRN2 | 0.031 | 0.013 | 0.014 | 0.016 | 0.016 | 0.013 | 0.013 | 0.000 |
| ECH | 0.202 | 0.191 | 0.192 | 0.191 | 0.193 | 0.193 | 0.191 | 0.193 |

Keterangan: RHC6, Isolat Bakteri Pelarut Fosfat Gianyar; BVR4, isolat *Brevundimonas diminuta* USA; BVR3, isolat *B. diminuta* USA; BVR2, isolat *B. diminuta* France; BRV1, isolat *B. diminuta* USA; BRV, isolat *B. diminuta* USA; PDS, *Pseudomonas diminuta* USA; BVRN1, isolat *B. naejangsanensis* USA; BVRN2, isolat *B. naejangsanensis* China; ECH, isolat *Escherichia coli* sebagai outgroup.

Hasil analisis filogenetika pada Gambar 2. menunjukkan bahwa pohon filogeni tersebut terbagi menjadi tiga kelompok besar. Percabangan kelompok untuk rhizobakteri perakaran kelor daerah Gianyar (RHC6) masuk ke dalam satu kelompok dengan dukungan nilai bootstrap 93% bersama *B. diminuta* strain 2P05AC asal USA, *B. diminuta* strain 3P09MD asal USA, *B. diminuta* strain 3P09MA asal USA, *B. diminuta* strain 2P04AC asal USA, *B. diminuta* strain 3F5N asal France dan *P. diminuta* asal USA .



Gambar 2. Hubungan kekerabatan 10 isolat hasil analisis kelompok berdasarkan pola pita DNA dengan metode *Maximum Parsimony*. Skala menunjukkan panjang cabang. Angka pada cabang merupakan persentase tingkat kepercayaan pengelompokan

Hasil analisis filogenetika dengan 1000 kali ulangan Bootstrap dan pendekatan *Maximum parsimony* menunjukkan bahwa isolat rhizobakteri perakaran kelor daerah Gianyar (RHC6) memiliki kedekatan dengan spesies *B. diminuta* dan

P. diminuta. Hal tersebut karena berdasarkan pohon filogeni terlihat bahwa RHC6 berada dalam satu kelompok (klade) dengan sekuen-sukuen spesies *B. diminuta* dan *P. diminuta*. Kelompok besar kedua adalah dari spesies *Brevundimonas naejangsanensis* dengan holomologi 93-94%. Keberadaan isolat RHC6 dalam kelompok/klade yang sama dengan *B. diminuta* (*P. diminuta*) dan *B. naejangsanensis* menunjukkan bahwa isolat tersebut memiliki kedekatan karena berasal genus *Brevundimonas*.

Brevundimonas diminuta dan *Pseudomonas diminuta* merupakan bakteri yang sama (Seger, 1994). *B. diminuta* sebelumnya dikenal sebagai *B. diminuta* (*P. diminuta*) yang merupakan bakteri Gram negatif yang hidup aerob di tanah dan air. *B. diminuta* (*P. diminuta*) merupakan salah satu bakteri pelarut fosfat yang mempunyai kemampuan melarutkan fosfat yang terikat di dalam tanah. Berdasarkan hasil penelitian Asyiah dkk., 2015 menyatakan bahwa *P. diminuta* mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman kopi arabika pada parameter tinggi tanaman, diameter batang, serta berat kering tajuk dan mengendalikan nematoda parasit *Pratylenchus coffeae*. Berdasarkan penelitian Namrata Singh *at al.*, 2015 menyatakan bahwa *B. diminuta* mampu menghasilkan IAA dalam memacu pertumbuhan pada tanaman padi. Bakteri pelarut fosfat seperti *Pseudomonas* dapat hidup bebas dalam bintil akar, rhizosfir, permukaan akar tanaman dan dalam tanah (Venkateswarlu dan Rao, 1983). Menurut Widawati dan Muharam (2012), aktivitas bakteri beberapa mampu menyediakan unsur P bagi tanaman serta dapat memproduksi hormon tumbuh seperti IAA (Indol Asam Asetat). Mekanisme *Pseudomonas* sp. Dalam memacu pertumbuhan tanaman banyak yang dilaporkan sebagai penghasil fitohormon dalam jumlah besar khususnya IAA untuk merangsang pertumbuhan (Watanabe, dkk., 1987). Glick dan Pasternak (1994) melaporkan bahwa *Pseudomonas* sp. adalah mikroba penghasil fitohormon khususnya IAA dalam jumlah besar dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan mengatur keseimbangan hormonal di dalam tanaman yang diinfeksi. *Pseudomonas* sp. mampu berkompetisi nutrisi berupa ion Fe yang terjadi pada kondisi ion Fe dalam jumlah yang terbatas. Bakteri ini mampu membentuk senyawa pengikat/penghelat ion tersebut sehingga menjadi tidak tersedia bagi mikroorganisme lain termasuk patogen.

4. Kesimpulan dan Saran

4.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Lima dari sembilan isolat bakteri pelarut fosfat mampu memicu hormon tumbuh IAA yaitu isolat RHC2 (rhizobakteri perakaran undis daerah Gianyar), RHC4 (rhizobakteri perakaran undis daerah Buleleng), RHC5 (rhizobakteri perakaran bengkuang daerah Badung), RHC6 (rhizobakteri perakaran Kelor daerah Gianyar) dan RHC7 (rhizobakteri perakaran kara benguk daerah Badung).

2. Hormon yang diekskresikan oleh isolat-isolat bakteri pelarut fosfat mampu meningkatkan pertumbuhan vegetatif tanaman kedelai.
3. Hasil identifikasi Isolat RHC6 (rhizobakteri perakaran kelor daerah Gianyar) yang menunjukkan persentase pertumbuhan tertinggi pada fase vegetatif kedelai mempunyai similitas tinggi (97 %), jarak genetik yang kecil (0,018) dan berada dalam satu subkelompok yang sama dengan isolat *Brevundimonas diminuta* (*Pseudomonas diminuta*).

4.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai jenis hormon-hormon lainnya yang diinduksi oleh isolat rhizobakteri serta konsentrasi masing-masing hormon yang dihasilkan dalam mendukung pertumbuhan tanaman kedelai.

Daftar Pustaka

- Aisyah, L.N. Soekarno W, Irfan F, Rita H. 2015. Populasi *Pratylenchus coffeae* (z). dan Pertumbuhan Bibit Kopi Arabika Akibat Inokulasi *Pseudomonas diminuta* L. dan *Bacillus subtilis* (C.)
- Berraqueiro F. R, Baya A. M, Cormenzana A. R. 1976. Establecimiento de índices para el estudio de la solubilizacion de fosfatos por bacterias del suelo. *ARS Pharmaceutica*. 17: 399-406.
- Kovacs K. 2009. Applications of Mossbauer Spectroscopy in Plant Physiology [Ph.D. Dissertation]. ELTE Chemistry Doctoral School, ELTE Institute of Chemistry, Budapest.
- Marchesi, J. R. T. S., A. J. Weightman, T. A. Martin, J. C. Fry, S. J. Hiom, and W. G. Wade. 1998. Design and Evaluation of Useful Bacterium-Specific PCR Primers That Amplify Genes Coding for Bacterial 16S rRNA. *Applied Environmental Microbiology* 64: 795-799.
- Olaniyi, J.O., Adelayose, K.A., Jegede, C.O. 2008. Influence of nitrogen fertilizer on the growth, yield and quality of grain Amaranth varieties. *World Journal of agricultural Sciences* 4 (4): 506 -513.
- Pattern, C.L., Glick, B.R. 2002. Role of *Pseudomonas putida* indole acetic acidin development of the the plant root system. *Appl Environ Microbio*
- Quintao, V. 2013. "Pemanfaatan Rhizobakteri yang Diisolasi Dari Rhizosfer Tanaman Padi Sebagai Agen Hayati untuk Mengendalikan Penyakit Blas pada Tanaman Padi" (tesis). Program Magister P.S. Bioteknologi Pertanian, Universitas Udayana.
- Rahman, A., Sitepu, I.R., Yan T.S., Hashidoko, Y. 2010. Salkowski's reagen test as a primary screening index for functionalities of Rhizobacteria isolated from wild dipterocarp saplings growing naturally on medium strongly acidic tropical peat soil. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 74(11): 1-7.
- Rao S. 1994. Mikroorganisme Tanah dan Pertumbuhan Tanaman. Edisi 2. UI Press, Jakarta
- Sergers, P., Vancanney, M. Pot. B., Torck, U. Hoste, B. 1994.

Classification of *Pseudomonas vesicularis* Busing, Doll and Frytag 1953 in *Brevundimonas* gen. nov. as *Brevundimonas diminuta* comb. Nov., and *Brevundimonas vesicularis* comb.

Nov., Respectively.

Talanca, A.H., dan A.M. Adnan. 2005. Mikoriza dan Manfaatnya pada Tanaman Prosiding

Perhimpunan Entomologi dan Fitologi Indonesia p: 311-315.
Toro, M., Azcon, R., and J. M. Barea, 1997. *Improvement of Arbuscular Mycorrhiza*

development by inoculation of soil with Phosphate-Solubilizing Rhizobacteria to Improve Rock Phosphate Bioavailability (P32) and Nutrient Cycling. Appl Environ Microbiol 63:4408-4412.

Venkateswarlu, K and A.V. Rao. 1983. Response of Pearl millet to Inoculation with Different

Strains of *Azospirillum brasilense*, *Plant Soil*, 74:379- 387.

Wahyudi, A.T., Astuti, R.P., Widyawati, A., Meryandini, A., Nawaningsih, A.A 2011.

Characterization of Bacillus sp. Strain isolated from rhizosphere of soybean plants for their use as potential plant growth for promoting rhizobacteria. *Journal of Microbiology and antimicrobials* 3(2): 34-4

Watanabe I., Yoneyama T., Padre B., Ladha J.K. 1987. Different in Natural Abundance of N Varieties in Several Rice (*Oriza Sativa* L.) Varieties : Application for Evaluating N-Fixation. *Soil Sci*

Widawati, S dan Muharam, A. 2012. Uji Laboratorium *Azospirillum sp.* Yang Diisolasi dari

Beberapa Ekosistem. *Journal Hortikultura* 22 (3), 258-267.