

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK
(*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DALAM MENAMBAT N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (*INDOLE-3-ACETIC ACID*) SERTA
PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG
MANIS (*Zea mays saccharata* Sturt.)**

SKRIPSI

Oleh:

**Rizki Muhassonah
NIM. 13620027**



JURUSAN BIOLOGI

**FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG**

2017

**POTENSI BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK
(*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DALAM MENAMBAT N₂ DI UDARA DAN
MENGHASILKAN HORMON IAA (*INDOLE-3-ACETIC ACID*) SERTA
PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG
MANIS (*Zea mays saccharata* Sturt.)**

SKRIPSI

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri
Maulana Malik Ibrahim
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan Dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Biologi**

Oleh:

**RIZKI MUHASSONAH
NIM. 13620027/S-1**

**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2017**

POTENSI BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DALAM MENAMBAT N₂ DI UDARA DAN MENGHASILKAN HORMON IAA (*INDOLE-3-ACETIC ACID*) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG MANIS (*Zea mays saccharata* Sturt.)

SKRIPSI

Oleh:

Rizki Muhassonah

NIM. 13620027

**Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 7 November 2017**

Dosen Pembimbing I

Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
NIP. 19650509 199903 2 002

Dosen Pembimbing II

Dr. H. Ahmad Barizi, MA
NIP. 19731212 199803 1 001

Mengetahui,

Ketua Jurusan Biologi



Romaidi, M.Si, D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019

POTENSI BAKTERI ENDOFIT RIMPANG TEMULAWAK (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) DALAM MENAMBAT N₂ DI UDARA DAN MENGHASILKAN HORMON IAA (*INDOLE-3-ACETIC ACID*) SERTA PENGARUHNYA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG MANIS (*Zea mays saccharata* Sturt.)

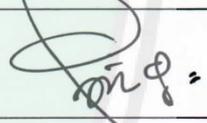
SKRIPSI

Oleh:

**Rizki Muhassonah
NIM. 13620027**

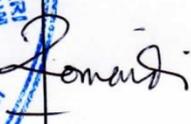
Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

Tanggal: November 2017

Penguji Utama:	<u>Ir. Liliek Harianie AR. M.P</u> NIP.19620901 199803 2 001	
Ketua Penguji:	<u>Prilya Dewi Fitriasari, M.Sc.</u> NIDT. 19900428 20160801 2 062	
Sekretaris Penguji:	<u>Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si</u> NIP. 19650509 199903 2 002	
Anggota Penguji:	<u>Dr. H. Ahmad Barizi, MA</u> NIP. 19731212 199803 1 001	

Mengesahkan,
Ketua Jurusan Biologi




Romaidi, M.Si, D.Sc
NIP. 19810201 200901 1 019

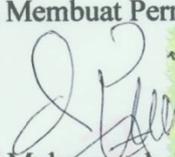
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Lengkap : Rizki Muhassonah
NIM : 13620027
Jurusan : Biologi
Fakultas : Sains dan Teknologi

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-banar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 8 November 2017
Yang Membuat Pernyataan,


Rizki Muhassonah
NIM. 13620027



MOTTO

**Dan Orang Mukmin yang Paling Sempurna Imanya adalah Mereka yang
Paling Baik Akhlaknya**

(HR. Ahmad)

Follow Your Dream (Like Breaker)

Even If You Break Down,

Even If You Collapse,

Never Run Backwards. Don't Give up

Don't Let Tomorrow Get too Far Away

(Tomorrow - BTS)

PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Dengan ini kupersembahkan hasil karya ini untuk semua pihak yang telah banyak membantu dalam pengerjaan skripsi kali ini, antara lain:

1. Kedua orang tua, Achmad Ridwan dan Titik Mazidah, serta adikku satu-satunya, Robitul Ilmi, yang telah memberikan semua dukungan baik lahir maupun batin, moril maupun materil, serta semua doa yang tak pernah sekalipun terlewatkan. Terima kasih banyak.
2. Dosen pembimbing yang telah membimbing dan memberikan kritik dan saran membangun hingga skripsi ini dapat terselesaikan. Terima kasih banyak bu.
3. Semua teman tidurku yang hampir 4 tahun ini telah menerima semua keluh kesah dan celotehan tanpa hentiku selama ini. Kamar E4 PPDU AL-Fadholi Malang (Ayang, Cuh, Caki, Adinda, Ida). Terima kasih bro. You're all my precious second family.
4. Sahabat lama yang tak pernah sedetikpun terlupa di pikiranku. SAID (Bakayu, Bayi, Embah). Terima kasih telah mengisi kehidupanku yang sepi dengan kenangan indah yang tak terlupakan.
5. Teman seperjuanganku selama kuliah, Nukleus Biologi A 2013. Khususnya Mama, ismet, mbak jen, dina, apipah dan uswa. Semoga kita semua diberikan kebahagiaan oleh Allah dan dapat dipertemukan dilain waktu.
6. Teman-teman komplek E PPDU AL-Fadholi (Dila, Fatiya, Mbak brot, Mbak Isna, Dina) yang telah mewarnai hari-hari di pondok tercinta. Semoga silaturahmi tetap terjalin diantara kita.

KATA PENGANTAR

Assalamu 'alaikum Warahmatullah Wabarakatuh

Alhamdulillah puji syukur kehadiran Allah, Dzat yang telah memberikan segala kenikmatan dan kerahmatan serta taufik-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul *Potensi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.) dalam Menambat N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (Indole-3-Acetic Acid) serta Pengaruhnya dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis (Zea mays saccharata Sturt.)* ini.

Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada teladan suci kita Rasulullah Muhammad saw, revolusioner Islam yang telah mengajak manusia dari kedholiman menuju keadilan dan mengeluarkan manusia dari zaman kegelapan menuju pilar cahaya terang yakni *ad-din al-Islam*.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini mustahil bisa selesai tanpa dukungan dan bantuan baik moril, spiritual maupun materiil dari pihak lain. Oleh karena itu, penulis sampaikan terimakasih yang tak terhingga kepada:

1. Prof. Dr. H. Abd Haris, M.Ag. selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
3. Romaidi, M.Si, D.Sc selaku Ketua Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
4. Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si., selaku dosen pembimbing yang dengan kesabarannya memberikan bimbingan dan arahan serta masukan-masukan yang sangat berarti kepada penulis selama penyusunan skripsi ini. semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.
5. Dr. H. Ahmad Barizi, MA, selaku dosen pembimbing integrasi sains dan agama yang memberikan arahan serta pandangan sains dari perspektif Islam sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik. Semoga Allah SWT selalu melimpahkan Rahmat-Nya kepada beliau dan keluarga. Amin.

6. Serta seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu yang turut membantu dan memotivasi hingga terselesaikannya skripsi ini.

Penulis mengakui bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan, kelemahan, dan masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun, guna perbaikan ke depan.

Akhirnya semoga karya ini diterima di sisi Allah swt dan harapan penulis semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semuanya, untuk dijadikan bahan pertimbangan dalam pengembangan pendidikan ke depan dan dapat memperluas cakrawala keilmuan.

Wassalamu 'laikum Warahmatullah Wabarakatuh

Malang, 30 Oktober 2017

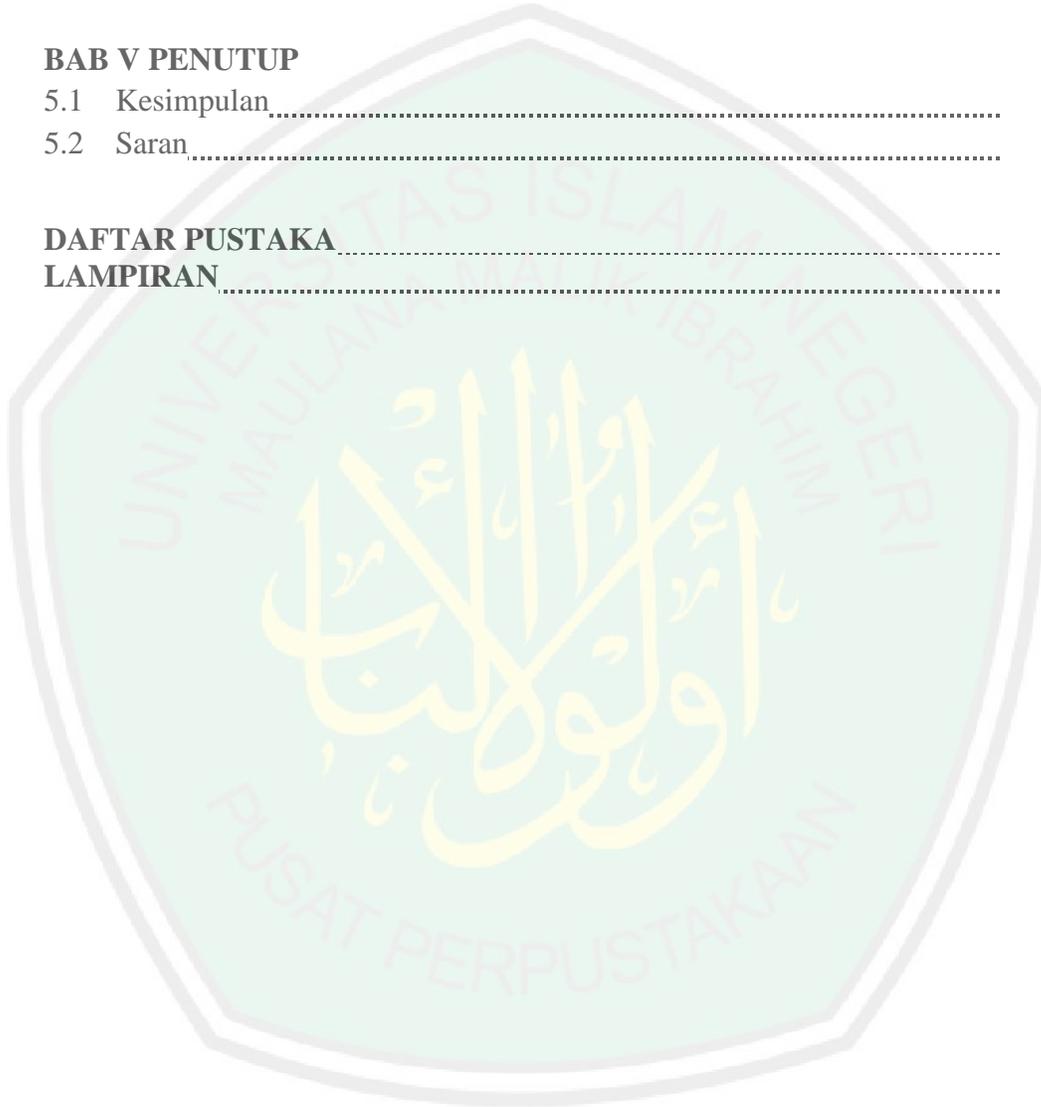
Penulis,

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PERSETUJUAN.....	iii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
MOTTO.....	vi
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	vii
KATA PENGANTAR.....	viii
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
ABSTRAK.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
ملخص البحث.....	xviii
 BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	8
1.3 Tujuan.....	9
1.4 Manfaat Penelitian.....	9
1.5 Batasan Masalah.....	10
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Tanaman Jagung Manis.....	11
2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Jagung Manis.....	11
2.1.2 Fase Pertumbuhan Tanaman Jagung.....	15
2.1.3 Syarat Tumbuh Tanaman Jagung Manis.....	19

2.2	Bakteri Endofit	19
2.2.1	Definisi Bakteri Endofit	19
2.2.2	Potensi Bakteri Endofit	21
2.2.3	<i>Enterobacter cloacae</i>	23
2.2.4	<i>Bacillus cereus</i>	25
2.3	Pupuk Hayati	27
2.4	Unsur Hara Nitrogen (N)	30
2.4.1	Tinjauan Umum	30
2.4.2	Bakteri Penambat Nitrogen	32
2.4.3	Mekanisme Penambatan Nitrogen	33
2.5	Hormon IAA (Indole-3-Acetic Acid)	35
2.5.1	Tinjauan Umum	35
2.5.2	Bakteri Penghasil Hormon IAA	37
2.5.3	Mekanisme Produksi Hormon IAA oleh Bakteri	39
 BAB III METODE PENELITIAN		
3.1	Rancangan Penelitian	42
3.2	Variabel Penelitian	43
3.3	Waktu dan Tempat	44
3.4	Alat dan Bahan	44
3.4.1	Alat	44
3.4.2	Bahan	44
3.5	Pelaksanaan Penelitian	45
3.5.1	Pembuatan Media Pertumbuhan	45
3.5.2	Sterilisasi Alat dan Bahan	45
3.5.3	Uji Kemampuan Menambat N ₂ di Udara	46
3.5.4	Uji Kemampuan Penghasil Hormon IAA	46
3.5.5	Pembuatan Suspensi Bakteri	47
3.5.6	Pengujian Bakteri Endofit pada Kecambah Tanaman Jagung Manis	48
3.5.7	Pengamatan	49
3.6	Analisa Data	49
 BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN		
4.1	Potensi Bakteri Endofit dalam Mengikat N ₂ di Udara	50
4.2	Potensi Bakteri Endofit dalam Memproduksi Hormon IAA	55

4.2.1 Uji Kualitatif.....	55
4.2.2 Uji Kuantitatif.....	56
4.3 Pengaruh Bakteri Endofit pada Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis.....	61
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	71
5.2 Saran.....	72
DAFTAR PUSTAKA	73
LAMPIRAN	85



DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Jagung Manis	13
Gambar 2.2 Buah Jagung Manis	14
Gambar 2.3 Fase Pertumbuhan Tanaman Jagung	16
Gambar 2.4 Morfologi <i>Enterobacter cloacae</i>	23
Gambar 2.5 Morfologi <i>Bacillus cereus</i>	25
Gambar 2.6 Perubahan Nitrogen secara Biologis dan Kimiawi	34
Gambar 2.7 Struktur Kimia Hormon IAA	36
Gambar 2.8 Mekanisme Kerja Auksin dalam Mempengaruhi Perpanjangan Sel	37
Gambar 2.8 Jalur Biosintesis IAA dari Triptofan yang Dilakukan oleh Mikroorganisme	40
Gambar 4.1 Nilai OD Isolat Bakteri Endofit pada Media M63 Cair Bebas Nitrogen	50
Gambar 4.2 Konsentrasi Hormon IAA yang Dihasilkan oleh Bakteri Endofit	57
Gambar 4.4 Morfologi Daun Tanaman Jagung Manis 21 HST	68

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Perbandingan Kandungan Gizi Jagung Manis dan Jagung Biasa dalam 100 gr	15
Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Uji Kualitatif terhadap Produksi Hormon IAA	55
Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Panjang Akar, Tinggi Tanaman, Jumlah Daun dan Berat Kering Tajuk Tanaman Jagung Manis 21 HST	61



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Gambar Uji Potensi Bakteri Endofit dalam Memproduksi Hormon IAA.....	85
Lampiran 2	Perhitungan Nilai Absorbansi Uji Potensi Fiksasi N ₂	87
Lampiran 3	Nilai Absorbansi Uji Potensi Penghasil Hormon IAA.....	88
Lampiran 4	Data Pengamatan Uji Potensi Bakteri Secara In Vivo.....	89
Lampiran 5	Hasil Analisis Sidik Ragam (ANOVA).....	90
Lampiran 6	Gambar Morfologi Tanaman Jagung Manis.....	92
Lampiran 7	Gambar Langkah-Langkah Pengujian <i>In Vitro</i> dan <i>In Vivo</i>	94
Lampiran 8	Gambar Alat Penelitian.....	95
Lampiran 9	Gambar Bahan Penelitian.....	96
Lampiran 10	Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dan Reagen Salkowski.....	97

ABSTRAK

Muhassonah, Rizki. 2017. **Potensi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dalam Menambat N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.)**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing: (I) Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si (II) Dr. H. Ahmad Barizi, M.A

Kata Kunci : Bakteri Endofit, N₂, Hormon IAA, Jagung Manis

Jagung manis dikenal sebagai komoditas pertanian yang diminati oleh masyarakat. Permintaan yang tinggi tidak diimbangi dengan produksi tanaman jagung manis. Untuk meningkatkan produksi tanaman jagung manis diantaranya dapat dilakukan dengan pemberian pupuk. Penggunaan pupuk anorganik yang menimbulkan banyak dampak negatif perlu dicarikan alternatif pengganti, salah satunya ialah dengan pupuk hayati. Kandidat pupuk hayati dapat berasal dari bakteri endofit. Bakteri endofit yang dapat dijadikan pupuk hayati harus memiliki beberapa kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman, diantaranya ialah kemampuan dalam menambat N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA. Pada penelitian kali ini, dilakukan pengujian potensi bakteri endofit rimpang temulawak dalam menambat N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA serta pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman jagung manis.

Penelitian kali ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) tunggal. Penelitian dilakukan secara *in vitro* untuk menguji potensi bakteri endofit dalam menambat N₂ di udara dan menghasilkan hormon IAA. Pengujian potensi bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung manis dilakukan secara *in vivo*. Parameter yang diamati antara lain panjang akar tinggi tanaman, jumlah daun, berat kering tajuk, dan warna daun. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan taraf signifikan 5%.

Hasil penelitian menunjukkan isolat *Enterobacter cloacae* memiliki kemampuan menambat N₂ di udara lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lain yang ditunjukkan dengan nilai OD sebesar 0,512. Selain itu, *Enterobacter cloacae* mampu menghasilkan hormon IAA dengan konsentrasi yang paling tinggi yaitu sebesar 0,373 ppm. Pada uji *in vivo*, *Enterobacter cloacae* dapat meningkatkan panjang akar sebesar 77%, tinggi tanaman sebesar 44%, jumlah helai daun sebesar 4,5%, dan berat kering tajuk sebesar 91%. Sementara itu, daun tanaman jagung manis yang dilakukan pemberian bakteri endofit memiliki warna yang tidak berbeda jauh dengan kontrol yaitu hijau tua.

ABSTRACT

Muhassonah, Rizki. 2017. **The Potential of Bacterial Endophyte of Wild Ginger (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Rhizome in N₂ Fixation and IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) Hormone Production and Its Effects on Plant Growth of Sweet Corn (*Zea mays saccharata* Sturt.)**. Thesis. Department of Biology, Faculty of Science and Technology of the State Islamic University of Maulana Malik Ibrahim Malang. Supervisor: (I) Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si (II) Dr. Ahmad Barizi, M.A

Keywords: Bacterial Endophyte, Atmospheric N₂, Hormones IAA, Sweet Corn

Sweet corn is known as the agricultural commodities that are in high demand by the community. Its high demands are not balanced with sweet corn crop production. To increase the production of sweet corn can be done by adding the fertilizer. The uses of inorganic fertilizers that cause a lot of negative impacts need to be looked for alternatives, one of which is biofertilizer. The candidate of biofertilizer can be derived from bacterial endophyte. Bacterial endophyte which can be used as biofertilizer should have some ability in increasing plant growth, among which is the ability in N₂ fixation and IAA hormone production. At this time, the research is done to test the potential of bacterial endophyte of wild ginger rhizome in N₂ fixation and IAA hormone production as well as its effects on the growth of sweet corn plants.

At this time, research uses Completely Randomized Design (RAL). Research carried out *in vitro* to test potential bacterial endophyte in N₂ fixation and IAA hormone production. To test the potential of bacterial endophyte in increasing the growth of sweet corn plants conducted in *in vivo* test. The observed parameters are the length of the roots, the height of plant, the amount of leaves, the amount canopy dry weight, and color of the leaves. The data obtained were analyzed using Analysis of Variance (ANOVA) with a significant level of 5%.

The results showed *Enterobacter cloacae* isolates have the ability to N₂ fixation is higher compared to other isolates, indicated by the value of the OD up to 0.512. In addition, *Enterobacter cloacae* was able to produce the highest concentration of IAA hormone up to 0.373 ppm. On *in vivo* test, *Enterobacter cloacae* can increase the length of the root up to 77%, increase height plants up to 44%, the amount of leaves up to 4,5%, increases the amount of canopy dry weight up to 91%. Meanwhile, the sweet corn plants leaves which is given by bacterial endophyte has a color that does not vary much with control that is dark green

ملخص البحث

محسنة، رزقي. 2017. الإمكانية البكتيرية إندوفيت (الكائنات الحية الدقيقة) في جذور تيمولاواك (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) في تمنع N_2 في الهواء وتنتج هرمون IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) وتأثيره على نمو النبات الذرة الحلوة (*Zea mays saccharata* Sturt). البحث الجامعي. شعبة البيولوجيا كلية العلوم والتكنولوجيا الجامعة الإسلامية الحكومية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرفة: الدكتورة أولفا أوتامي، الحاجة الماجستير، والدكتور أحمد بارزي، الحج الماجستير

لكلمات الرئيسية: البكتيريا إندوفيت، N_2 ، هرمون IAA، الذرة الحلوة

عرفت الذرة الحلوة كما السلع الزراعية التي تطلب للمجتمع. ارتفاع الطلب لا يقابل إنتاج الذرة الحلوة. لزيادة إنتاج الذرة الحلوة يمكن ان يقوم به مع توفير الأسمدة. استخدام الأسمدة التي تسبب على الآثار السلبية تحتاج إلى البحث عن بدائل، واحدة منها هي الأسمدة البيولوجية. يمكن أن يأتي المرشحون القابلون للتحلل من البكتيريا النائية. يجب أن له البكتيريا داخلي نباتي التي تمكن ان تستخدمها كسماد البيولوجية لديهم القدرات على زيادة نمو النباتات، يعني القدرة على حبل N_2 في الهواء وتنتج هرمونات IAA. في هذا البحث، واختبار إمكانات البكتيريا إندوفيت (الكائنات الحية الدقيقة) في جذور تيمولاواك في تمنع N_2 في الهواء وتنتج هرمونات IAA وتأثيره على نمو النبات الذرة الحلوة.

استخدم البحث الحالية تصميم عشوائية كاملة (RAL). وأجري البحث في المختبر لاختبار إمكانات البكتيريا إندوفيت في تمنع N_2 في الهواء وتنتج هرمونات IAA وتأثيره على نمو النبات الذرة الحلوة. اختبار إمكانات البكتيريا إندوفيت في تعزيز نمو النبات من الذرة الحلوة يستخدم في المختبر. وتشمل المعلمات هي طول جذر من ارتفاع النبات، وعدد الأوراق، الوزن الجاف التاج، ولون الورقة. استخدم تحليل البيانات مع تحليل التباين Analysis of Variance (ANOVA) مع مستوى معنوي هو 5٪.

وتدل النتائج أن العزلة الأمعائية المدرقية *Enterobacter cloacae* لها أعلى الاقدرة في تمنع N_2 المقارنة بالعزلات الأخرى التي أشارت إليها القيمة OD يعني 0.512. وبالإضافة إلى ذلك، الأمعائية المدرقية تقدر على إنتاج هرمون IAA وفقا لأعلى تركيز تساوي 0.373 جزء في المليون. في الاختبارات الجسم (الحي)، تمكن الأمعائية المدرقية ان تزيد طول الجذور بنسبة 77٪ لتصل إلى 44٪ من ارتفاع النبات بنسبة 4.5٪ في عدد الأوراق والوزن الجاف بنسبة 91٪. لذلك، أوراق نبات الذرة الحلوة مع البكتيريا إندوفيت لها الالوان لا يختلف كثيرا مع السيطرة يعني الأخضر الداكن

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt.) merupakan salah satu tanaman pangan yang diminati oleh masyarakat Indonesia. Hal tersebut karena jagung manis memiliki rasa yang lebih manis dibandingkan dengan jagung biasa. Kadar gula pada endosperm jagung manis berkisar 5-6%, sedangkan pada jagung biasa hanya berkisar 2-3% (Sirajuddin, 2010). Jagung manis dapat diolah menjadi jagung bakar, bahan kue, campuran sayur, dan sebagainya. Selain itu, hampir semua bagian tanaman jagung manis dapat dimanfaatkan dan memiliki nilai ekonomis. Batang dan daun mudanya dapat dimanfaatkan sebagai pakan ternak. Sementara itu, daun tuanya dapat dimanfaatkan sebagai pupuk kompos (Purwono dan Hartono, 2005).

Kebutuhan jagung manis di Indonesia mengalami peningkatan seiring dengan meningkatnya jumlah penduduk dan kebutuhan jagung manis untuk dikonsumsi langsung. Meskipun demikian, produksi dari tanaman jagung manis di Indonesia mengalami penurunan dari tahun ke tahun. Pada tahun 2012, produksi jagung manis sebanyak 19,3 juta ton, sedangkan pada tahun 2013 menjadi 18,5 juta ton. Jumlah tersebut masih belum bisa memenuhi kebutuhan jagung manis nasional yang sebanyak 20 juta ton (BPS, 2013).

Penyebab rendahnya produktivitas jagung manis di Indonesia adalah pembudidayaan yang dilakukan di lahan dengan tingkat kesuburan rendah. Kebutuhan nitrogen tanaman jagung manis lebih tinggi dibandingkan dengan tanaman jagung biasa. Tanaman jagung manis membutuhkan nitrogen sebanyak 150-300 kg N/ha, sedangkan jagung biasa hanya membutuhkan 70 kg N/ha. Kandungan nitrogen pada tanah hanya sebesar 70 kg N/ha (Septian *et al.*, 2015), sehingga kebutuhan nitrogen tanaman jagung manis tidak mampu dipenuhi oleh tanah.

Hal yang dapat dilakukan untuk meningkatkan kesuburan tanah adalah dengan pemberian pupuk (Setiawan, 1993). Pupuk yang direkomendasikan untuk tanaman jagung manis ialah pupuk anorganik sebanyak 200 kg N ha⁻¹ atau setara dengan 435 kg urea ha⁻¹, 150 kg P₂O₅ ha⁻¹ setara dengan 335 kg TSP ha⁻¹, dan 150 kg K₂O ha⁻¹ setara dengan 250 kg KCl ha⁻¹ serta bahan organik 10 sampai 20 ton (Koswara, 1986).

Penggunaan pupuk anorganik secara berlebihan dapat menimbulkan beberapa dampak negatif, diantaranya mengurangi aktivitas organisme tanah, mengubah sifat fisik tanah (Mahboobeh *et al.*, 2014), menyebabkan akumulasi logam berat tanah dan sistem tanaman, serta menipiskan ketersediaan unsur hara mikro. Penggunaan pupuk anorganik dalam jangka waktu yang lama juga dapat menyebabkan tanah menjadi mengeras, kurang mampu menyimpan air dan cepat menjadi asam sehingga menurunkan produktivitas tanaman (Marpaung, 2014).

Seperti yang telah dijelaskan Allah dalam QS. Ar-Ruum (30) ayat 41 yang berbunyi:

ظَهَرَ الْفَسَادُ فِي الْبَرِّ وَالْبَحْرِ بِمَا كَسَبَتْ أَيْدِي النَّاسِ لِيُذِيقَهُمْ بَعْضَ الَّذِي عَمِلُوا لَعَلَّهُمْ يَرْجِعُونَ



Artinya: “Telah nampak kerusakan di darat dan di laut disebabkan karena perbuatan tangan manusia, supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka, agar mereka kembali (ke jalan yang benar)” (QS Ar-Ruum (30):41).

Menurut beberapa pendapat, makna *al-fasaad* (الفساد) atau kerusakan adalah kekeringan, sedikitnya hasil tanaman serta hilangnya berkah. Kerusakan tersebut akibat perbuatan manusia yang sering melakukan kemaksiatan dimana merupakan sebagian dari siksaan yang diberikan karena sebagian besar siksaan ada di akhirat (Al-Qurthubi, 2009).

Makna dari lafadz *ليذيقهم بعض الذي عملوا* (supaya Allah merasakan kepada mereka sebagian dari (akibat) perbuatan mereka), yaitu Allah menguji manusia dengan kekurangan harta, jiwa, dan buah-buahan sebagai suatu ujian dari-Nya dan balasan atas perilaku mereka. Abul ‘Aliyah berkata: “Barangsiapa yang berlaku maksiat kepada Allah di muka bumi, maka berarti dia telah berbuat kerusakan di dalamnya. Hal itu karena kebaikan bumi dan langit adalah dengan sebab ketaatan”. Siksaan tersebut bertujuan agar mereka kembali ke jalan yang benar yaitu bertobat (Al-Qurthubi, 2009). Lafadz *la'allahum yarji'uun* (لعلهم يرجعون) dapat diartikan sebagai kembali ke alam. Hal tersebut dapat berarti bahwa Allah menciptakan segala sesuatu

dalam keadaan seimbang. Sehingga kerusakan yang ada di bumi dan langit akan dikembalikan untuk mencapai suatu keseimbangan alam.

Penggunaan pupuk anorganik hendaknya dikurangi mengingat dampak negatif yang ditimbulkan. Oleh karena itu, diperlukan alternatif untuk menggantikan peran pupuk anorganik dalam menyediakan unsur hara bagi tanaman. Pupuk hayati dapat menjadi solusi dalam mengatasi permasalahan tersebut. Pupuk hayati merupakan mikroba hidup yang diberikan ke dalam tanah sebagai inokulan untuk membantu tanaman memfasilitasi atau menyediakan unsur hara tertentu (Yuwono, 2006). Penggunaan pupuk hayati dapat menghemat penggunaan pupuk kimia dan biaya pemupukan berturut-turut 50% dan 15-46%, meningkatkan kemampuan penyimpanan air serta meningkatkan struktur tanah (Sentana, 2010).

Pupuk hayati telah diketahui mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Hasil penelitian Kannahi & Ramya (2015) menunjukkan bahwa pupuk hayati dari *Azospirillum* memberikan hasil tertinggi pada tinggi tanaman tomat yakni sebesar 15,9 cm dibandingkan dengan kontrol yang hanya sebesar 8 cm. Widawati (2015) menyatakan bahwa inokulasi bakteri memberikan efek positif pada diameter batang anakan tanaman turi (4,3 mm) dibandingkan dengan perlakuan kontrol (2,2 mm).

Bakteri endofit merupakan kandidat yang potensial untuk dijadikan sebagai pupuk hayati. Hal tersebut didukung oleh kemampuan bakteri endofit dalam menambat nitrogen dan menghasilkan hormon pertumbuhan (Compant *et al.*, 2005). Nitrogen merupakan unsur hara utama yang umumnya digunakan oleh tanaman untuk

membentuk organ-organ vegetatif, seperti batang, akar dan daun. Dengan tersedianya unsur nitrogen, maka aktivitas sel tanaman dapat berjalan dengan normal. Selain itu, hormon IAA pada tanaman juga dibentuk oleh unsur nitrogen (Pasta *et al.*, 2015). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa bakteri endofit memiliki potensi dalam menambat N_2 di udara. Berdasarkan penelitian Vionita *et al.* (2013), bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi memiliki kemampuan untuk mengakumulasi amonium mencapai 15 mg/L.

Bakteri endofit yang dapat digunakan sebagai kandidat pupuk hayati memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon pertumbuhan tanaman, salah satunya ialah hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) (Compant *et al.*, 2005). Hormon IAA merupakan hormon kunci bagi berbagai aspek pertumbuhan dan perkembangan tanaman sehingga sintesisnya oleh jenis bakteri tertentu merupakan salah satu alasan yang menyebabkan meningkatnya pertumbuhan tanaman (Aryantha *et al.*, 2004). Pengaruh utama hormon IAA adalah memacu pertumbuhan akar dan batang melalui pemanjangan sel-sel meristem yang baru terbentuk (Taiz dan Zeiger, 2004).

Berdasarkan penelitian Suriaman (2010), bakteri endofit dari tanaman kentang dapat menghasilkan hormon IAA secara *in vitro* baik isolat tunggal maupun isolat campuran hingga mencapai 1,16 ppm. Sementara itu, kemampuan bakteri endofit dalam menambat N_2 di udara dapat mencapai 1,399 ppm. Khairani (2009) melaporkan bahwa bakteri endofit dari akar tanaman jagung mampu menghasilkan hormon IAA hingga mencapai 1,126 ppm. Sementara itu, bakteri endofit yang

diisolasi dari batang padi mampu menghasilkan hormon IAA yang lebih tinggi, yaitu 8,295 ppm (Susilowati *et al.*, 2003).

Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, daun dan biji (Saylendra dan Firnia, 2013). Pada penelitian kali ini digunakan bakteri endofit yang berasal dari rimpang temulawak, yang terdiri atas *Bacillus cereus* dan *Enterobacter cloacae* hasil isolasi dari Imawati (2015). *Enterobacter cloacae* diketahui memiliki kemampuan untuk meningkatkan fiksasi N₂ pada tanaman padi (Elbeltagy *et al.* 2001). Sementara itu, menurut Gupta *et al.* (2015) *Enterobacter cloacae* mampu mensekresi hormon IAA dalam jumlah rendah.

Hasil penelitian Ding *et al.* (2005) menunjukkan bahwa *Bacillus cereus* yang diisolasi dari area perakaran tanaman mempunyai gen *nifH*. Gen tersebut mengkode pembentukan enzim nitrogenase yang mengkatalisis proses fiksasi nitrogen. *Bacillus cereus* yang diisolasi dari zona perakaran gandum diketahui memiliki kemampuan dalam menghasilkan hormon IAA (Mohite, 2013). Hasil penelitian Junior *et al.* (2015) menunjukkan *Bacillus cereus* yang diisolasi dari tanah dapat menghasilkan hormon IAA dengan konsentrasi lebih dari 100µg/ml. Jumlah tersebut lebih tinggi dibandingkan hasil penelitian Assumption (2008) dalam Junior *et al.* (2015) yang menunjukkan bahwa *Bacillus* hasil isolasi dari kacang kedelai hanya mampu memproduksi IAA sebanyak 2,6 sampai 6,5 µg/ml.

Berdasarkan penelitian Suriaman (2010), konsorsium bakteri *Bacillus mycoides* dengan *Klebsiella ozaenae* mampu menghasilkan konsentrasi amonium tertinggi

yakni sebanyak 1,399 ppm, sementara hasil tertinggi isolat tunggal hanya sebesar 1,106 ppm. Sementara itu, hasil penelitian Hidayati *et al.* (2014) menunjukkan bahwa aplikasi konsorsium bakteri endofit (*Bacillus paraconglomeratum*, *Pseudomonas aeruginosa* dengan *Pseudomonas vermicola*) memiliki hasil terbaik pada rata-rata berat kering kecambah karet yaitu sebesar 0,75 gram, sedangkan aplikasi isolat tunggal (*Bacterium*) hanya menghasilkan rata-rata sebesar 0,58 gram. Hal tersebut mendasari digunakannya isolat campuran sebagai salah satu objek penelitian.

Pertumbuhan tanaman didefinisikan sebagai bertambah besarnya tanaman yang diikuti oleh peningkatan berat kering (Isnaini, 2006). Berat kering tajuk tanaman adalah indikator pertumbuhan tanaman karena bobot kering tanaman merupakan hasil akumulasi asimilat tanaman yang diperoleh dari total pertumbuhan dan perkembangan tanaman selama hidupnya (Mursito dan Kawiji, 2002). Unsur N berperan penting dalam pembentukan klorofil sehingga proses fotosintesis tanaman semakin baik sehingga semakin baik proses fotosintesis maka pertumbuhan vegetatif tanaman semakin baik (Sutedjo, 1994). Oleh karena itu, tinggi tanaman dan jumlah daun dapat digunakan sebagai parameter dari pertumbuhan tanaman. Warna daun dapat menjadi parameter penting yang menunjukkan kecukupan N dalam jaringan tanaman. Hal itu karena N memegang peranan penting sebagai penyusun klorofil sehingga daun akan nampak berwarna hijau (Mangel dan Kirby, 1987). Sementara itu, salah satu peranan dari hormon IAA ialah memacu perkembangan akar (Taiz dan Zeiger, 2004). Perkembangan akar tersebut menyebabkan perluasan serapan hara

tanaman (Khairani, 2009). Oleh karena itu, panjang akar dapat dijadikan parameter dari pengaruh hormon IAA terhadap pertumbuhan tanaman.

Berdasarkan latar belakang tersebut maka perlu dilakukan penelitian yang berjudul “Potensi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) Menambat N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis (*Zea mays* saccharata Sturt.)”.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini antara lain:

1. Apakah bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) memiliki potensi dalam mengikat N₂ di udara secara *in vitro*?
2. Apakah bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) memiliki potensi dalam menghasilkan hormon IAA secara *in vitro*?
3. Apakah bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) memiliki pengaruh terhadap pertumbuhan tanaman jagung manis (*Zea mays* saccharata Sturt.)?

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini antara lain:

1. Untuk mengetahui potensi bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) dalam mengikat N₂ di udara secara *in vitro*.
2. Untuk mengetahui potensi bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) dalam menghasilkan hormon IAA secara *in vitro*.
3. Untuk mengetahui pengaruh bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* roxb.) pada pertumbuhan tanaman jagung manis (*Zea mays* saccharata Sturt.).

1.4 Manfaat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat, diantaranya adalah:

1. Menyediakan wawasan terhadap pengembangan ilmu pengetahuan biologi khususnya bidang mikrobiologi.
2. Menyediakan informasi bakteri endofit yang dapat digunakan sebagai kandidat pupuk hayati.
3. Dapat dijadikan sebagai sumber informasi bagi penelitian berikutnya.

Batasan Masalah

Batasan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bakteri endofit yang digunakan diperoleh dari koleksi laboratorium mikrobiologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah diisolasi dari rimpang temulawak, yaitu *Enterobacter cloacae* dan *Bacillus cereus*.
2. Bakteri endofit yang diuji terdiri dari isolat tunggal dan isolat campuran. Isolat tunggal terdiri dari *Bacillus cereus* dan *Enterobacter cloacae*. Isolat campuran terdiri dari *B. cereus* dengan *E. cloacae*.
3. Benih jagung yang digunakan ialah benih tanaman jagung manis yang diperoleh dari pasar bunga splendid Malang.
4. Uji fiksasi N₂ di udara oleh bakteri endofit dideteksi dengan pertumbuhan bakteri endofit pada media M63 yang diamati dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 420 nm menggunakan spektrofotometer.
5. Uji kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA secara kuantitatif diketahui dengan mengamati perubahan warna yang terjadi pada supernatan kultur bakteri setelah diberi penambahan reagen salkowski.
6. Uji kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA secara kuantitatif diukur dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 535 nm menggunakan spektrofotometer dan dikonversikan pada kurva standar IAA
7. Parameter pengujian secara *in vivo* pada tanaman jagung adalah panjang akar, tinggi tanaman, jumlah daun, berat kering tajuk tanaman dan warna daun.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.)

2.1.1 Klasifikasi dan Morfologi Tanaman Jagung Manis

Tanaman jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt.) dalam sistematika tumbuh-tumbuhan menurut Purwono dan Hartono (2005) adalah sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
 Divisi : Spermatophyta
 Class : Monocotyledonae
 Ordo : Poales
 Famili : Poaceae
 Genus : *Zea*
 Species : *Zea mays saccharata* Sturt.

Morfologi pada tanaman telah banyak disebutkan Allah dalam Al-Qur'an. Salah satunya ialah pada QS. Yaasiin (36): 33 yang berbunyi:

وَأَيُّ لَّهُمُ الْأَرْضُ الْمَيْتَةُ أَحْيَيْنَاهَا وَأَخْرَجْنَا مِنْهَا حَبًّا فَمِنْهُ يَأْكُلُونَ - ٣٣

Artinya: “Dan suatu tanda (kebesaran Allah) bagi mereka adalah bumi yang mati (tandus). Kami Hidupkan bumi itu dan Kami keluarkan darinya biji-bijian, maka dari (biji-bijian) itu mereka makan” (QS. Yaasiin (36): 33).

Ayat di atas menjelaskan bahwa Allah memberikan peringatan pada manusia atas dihidupkannya yang mati. Allah juga mengingatkan kepada manusia tauhid-Nya dan

sempurnanya kekuasaan-Nya, yaitu Allah menghidupkan tanah yang mati dengan menumbuhkan tanaman dan mengeluarkan biji-bijian darinya. Lafadz فَمِنْهُ (*faminhu*) maksudnya dari biji-bijian itu يَأْكُلُونَ (*yakuluun*) “mereka makan” (Al-Qurthubi, 2009). Abu Ja’far berkata, “maksud dari ayat ini adalah, dan satu petunjuk bagi orang-orang yang musyrik tentang keutamaan Allah terhadap hal-hal yang dikehendaki-Nya, dan menghidupkan makhluk-Nya yang telah mati dan mengembalikannya seperti sedia kala sesudah musnah. Allah menghidupkan bumi mati yang tidak ada tumbuhan dan tanaman di dalamnya dengan air hujan yang diturunkannya dari langit, hingga keluar tumbuhannya, kemudian dari tumbuhan itu Allah mengeluarkan biji yang menjadi makanan pokok bagi mereka, lalu darinya mereka memperoleh makanan” (Ath-Thabari, 2008).

Jagung Manis adalah tanaman herba monokotil, dan tanaman semusim iklim panas. Panjang batangnya berkisar 60-300 cm atau lebih tergantung dari tipe dan jenis batang. Ruas bagian atas jagung manis berbentuk silindris, sedangkan ruas-ruas batang bagian bawah berbentuk bulat agak pipih (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Tanaman jagung berakar serabut, menyebar ke samping dan ke bawah sepanjang 25 cm. Pada tanaman dewasa muncul akar adventif dari buku-buku batang bagian bawah yang membantu menyangga tegaknya tanaman (Suprpto, 1990).

Daun jagung manis terdiri atas pelepah daun dan helai daun. Helaian daunnya memanjang dengan bagian ujung meruncing dengan pelepah-pelepah yang berselang-seling yang berasal dari setiap buku. Daun-daunnya lebar serta relatif panjang dan

berjumlah antara 10-20 helai tiap tanaman. Epidermis bagian atas biasanya berambut halus (Goldsworthy dan Fisher, 1996). Tanaman jagung manis berumah satu, dengan bunga jantan tumbuh sebagai perbungaan ujung (*tassel*) pada batang utama (poros atau tangkal), dan bunga betina tumbuh terpisah sebagai perbungaan samping (tongkol) yang berkembang pada ketiak daun. Tanaman ini menghasilkan satu atau beberapa tongkol (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Morfologi dari tanaman jagung manis dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Jagung Manis (Syukur dan Aziz, 2013)

Buah biji jagung manis terdiri atas tongkol, biji dan daun pembungkus. Pada umumnya, biji jagung manis tersusun dalam barisan yang melekat secara lurus ataupun berkelok-kelok dan jumlahnya berkisar 8-20 baris biji. Biji jagung manis terdiri atas tiga bagian utama, yaitu kulit biji, endosperm, dan embrio (Rukmana, 1997). Sifat manis yang dimiliki jagung manis disebabkan oleh adanya gen *su-1* (*sugary*), *bt-2* (*brittle*) ataupun *sh-2* (*shrunken*). Ketiga gen tersebut dapat mencegah

perubahan gula menjadi zat pati pada endosperm sehingga jumlah gula yang ada kira-kira dua kali lipat dibanding jagung biasa (Koswara, 1986).



Gambar 2.2 Buah Jagung Manis (Syukur dan Aziz, 2013)

Tiap 100 gram bahan basah jagung manis yang dapat dimakan mengandung 96 kalori; 3,5 gram protein; 1,0 gram lemak; 22,8 gram karbohidrat; 3,0 mg K; 0,7 mg Fe; 111,0 mg P; 400 SI vitamin A; 0,15 mg vitamin B; 12 mg vitamin C dan 0,727 % air (USDA, 1963 dalam Kusmiyati, 1988). Kandungan gizi pada jagung manis dan jagung biasa berbeda. Adapun kandungannya disajikan pada tabel 2.1

Tabel 2.1 Perbandingan Kandungan Gizi Jagung Manis dan Jagung Biasa dalam 100 gram

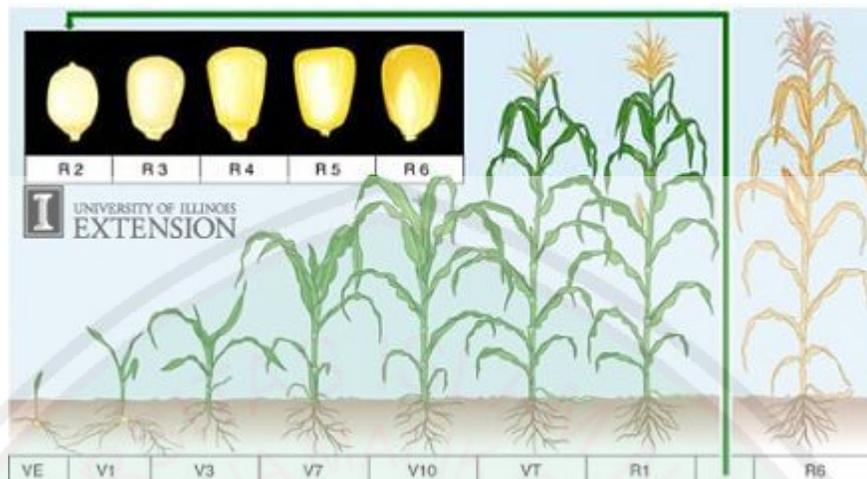
Komponen	Satuan	Jagung Biasa	Jagung Manis
Energi	Cal	129	96,0
Protein	Gr	4,1	3,5
Lemak	Gr	1,3	1,0
Karbohidrat	Gr	30,3	22,8
Kalsium	Mg	5,0	3,0
Fosfor	Mg	108,0	111
Besi	Mg	1,1	0,7
Vitamin A	SI	117,0	400
Vitamin B	Mg	0,18	0,15
Vitamin C	Mg	9,0	12,0
Air	Gr	63,5	72,7

Sumber: Syukur dan Aziz (2013)

2.1.2 Fase Pertumbuhan Tanaman Jagung

Pertumbuhan jagung dapat dikelompokkan ke dalam tiga tahap, yaitu (1) fase perkecambahan, saat proses imbibisi air yang ditandai dengan pembengkakan biji sampai dengan sebelum munculnya daun pertama; (2) fase pertumbuhan vegetatif, yaitu fase mulai munculnya daun pertama yang terbuka sempurna sampai tasseling dan sebelum keluarnya bunga betina (silking), fase ini diidentifikasi dengan jumlah daun yang terbentuk; dan (3) fase reproduktif, yaitu fase pertumbuhan setelah silking sampai masak fisiologis (Subekti, 2010). Tanaman jagung manis membutuhkan nitrogen sebanyak 150-300 kg N/ha, sedangkan jagung biasa hanya membutuhkan 70 kg N/ha (Septian *et al.*, 2015). Fase pertumbuhan jagung dapat dilihat pada gambar

2.3



Gambar 2.3 Fase Pertumbuhan Tanaman Jagung (University of Illinois, 1992 dalam Subekti, 2010)

Perkecambahan benih jagung terjadi ketika radikula muncul dari kulit biji. Benih jagung akan berkecambah jika kadar air benih pada saat di dalam tanah meningkat >30% (McWilliams *et al.*, 1999). Setelah perkecambahan, pertumbuhan jagung melewati beberapa fase berikut:

1. Fase V3-V5

Fase ini berlangsung pada saat tanaman berumur 10-18 hari setelah berkecambah dan dicirikan dengan jumlah daun yang terbuka sempurna berjumlah 3-5 helai. Pada fase ini akar seminal sudah mulai berhenti tumbuh, akar nodul sudah mulai aktif dan titik tumbuh di bawah permukaan (McWilliams *et al.*, 1999).

2. Fase V6-V10

Fase ini berlangsung pada saat tanaman berumur antara 18-35 hari setelah berkecambah dan dicirikan dengan jumlah daun yang terbuka sempurna berjumlah 4-10 helai. Titik tumbuh sudah di atas permukaan tanah, perkembangan akar dan

penyebarannya di tanah sangat cepat, dan pemanjangan batang meningkat dengan cepat. Pada fase ini bakal bunga jantan dan perkembangan tongkol dimulai. Tanaman mulai menyerap hara dalam jumlah yang lebih banyak, karena itu pemupukan pada fase ini diperlukan untuk mencukupi kebutuhan hara bagi tanaman (McWilliams *et al.*, 1999).

3. Fase V11-Vn

Fase ini berlangsung pada saat tanaman berumur antara 33-50 hari setelah berkecambah dan dicirikan dengan jumlah daun yang terbuka sempurna berjumlah 11 helai hingga daun terakhir (15-18 helai). Tanaman tumbuh dengan cepat dan akumulasi bahan kering meningkat dengan cepat pula. Tanaman sangat sensitif terhadap cekaman kekeringan dan kekurangan hara (McWilliams *et al.*, 1999).

4. Fase Tasseling/ VT

Fase tasseling biasanya berkisar antara 45-52 hari, ditandai oleh adanya cabang terakhir dari bunga jantan sebelum kemunculan bunga betina (silk/ rambut tongkol). Tahap VT dimulai 2-3 hari sebelum rambut tongkol muncul, dimana pada periode ini tinggi tanaman hampir mencapai maksimum dan mulai menyebarkan serbuk sari (Subekti, 2010).

5. Fase R1 (Silking)

Fase silking diawali oleh munculnya rambut dari dalam tongkol yang terbungkus kelobot, biasanya mulai 2-3 setelah tasseling. Serbuk sari membutuhkan waktu

sekitar 24 jam untuk mencapai sel telur ketika proses penyerbukan. Fertilisasi akan berlangsung membentuk bakal biji (Subekti, 2010).

6. Fase R2 (Blitser)

Fase R2 muncul sekitar 10-14 hari setelah silking, rambut tongkol sudah kering dan berwarna gelap. Ukuran tongkol, kelobot, dan janggol hampir sempurna, biji sudah mulai nampak dan berwarna putih melepuh, pati mulai diakumulasi ke endosperm, kadar air biji sekitar 85% dan akan menurun terus sampai panen (Subekti, 2010).

7. Fase R3 (Masak Susu)

Fase ini terbentuk 18-22 hari setelah silking. Pengisian biji semula dalam bentuk cairan bening, berubah seperti susu. Akumulasi pati pada setiap biji sangat cepat warna biji sudah mulai terlihat, dan bagian sel pada endosperm sudah terbentuk (Subekti, 2010).

8. Fase R4 (Dough)

Fase R4 mulai terjadi 24-48 hari silking. Bagian dalam biji seperti pasta. Separuh dari akumulasi bahan kering biji sudah terbentuk dan kadar air biji menurun menjadi sekitar 70% (Subekti, 2010).

9. Fase R5 (Pengerasan Biji)

Fase R5 akan terbentuk 35-42 hari setelah silking. Seluruh biji sudah terbentuk sempurna, embrio sudah masak, dan akumulasi bahan kering biji akan segera terhenti. Kadar air biji 55% (Subekti, 2010).

10. Fase R6 (Masak Fisiologis)

Fase R6 terjadi pada 55-65 hari setelah silking. Pada tahap ini, biji-biji pada tongkol telah mencapai bobot kering maksimum. Lapisan pati yang keras pada biji telah berkembang dengan sempurna dan telah terbentuk pula lapisan absisi berwarna coklat atau kehitaman (Subekti, 2010).

2.1.3 Syarat Tumbuh Tanaman Jagung Manis

Dalam budidaya jagung manis ada hal-hal yang perlu diperhatikan diantaranya syarat tumbuh, adapun syarat tumbuh yang baik tanaman jagung yaitu ditanam pada ketinggian sampai dengan 3.000 m dpl (Syukur dan Aziz, 2013). Jagung manis tumbuh baik pada tanah dengan pH antara 6,5-7,0 (Thompson dan Kelly, 1957). Jagung manis merupakan tanaman daerah tropis dan dapat tumbuh dengan baik dengan suhu rata-rata 14-30°C dengan curah hujan sekitar 600 mm-1200 mm per tahun yang terdistribusi rata selama musim tanaman (Kartasapoetra, 1987). Tanaman jagung manis membutuhkan nitrogen sebanyak 150-300 kg N/ha, sedangkan jagung biasa hanya membutuhkan 70 kg N/ha (Septian *et al.*, 2015).

2.2 Bakteri Endofit

2.2.1 Definisi Bakteri Endofit

Bakteri endofit atau mikroorganisme endofit adalah mikroorganisme yang selama siklus hidupnya berada dalam jaringan tanaman dan dapat membentuk koloni tanpa

menimbulkan kerusakan pada tanaman tersebut. Bakteri endofit dapat diisolasi dari bagian akar, batang, daun dan biji (Saylendra dan Firnia, 2013).

Bakteri endofit diduga berasal dari lingkungan luar. Bakteri tersebut kemudian masuk ke dalam jaringan tumbuhan melalui stomata, lentisel, luka, daerah pemunculan tunas akar lateral dan tunas perkecambahan dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektinase. Di dalam jaringan tumbuhan biasanya bakteri tersebut akan berkoloni pada daerah ruang interseluler dan sistem vaskular. Dalam satu tanaman dapat ditemukan beberapa spesies bakteri baik gram positif maupun gram negatif (Yulianti, 2014).

Bakteri merupakan salah satu makhluk hidup yang memiliki keunikan tersendiri dibandingkan dengan makhluk hidup lainnya, mulai dari siklus hidup, habitat, manfaat dan lain sebagainya. Bakteri telah dijelaskan dalam Al-Qur'an salah satunya tertera pada QS. Yunus (10) ayat 61 yang berbunyi:

وَمَا تَكُونُ فِي شَأْنٍ وَمَا تَتْلُو مِنْهُ مِنْ قُرْآنٍ وَلَا تَعْمَلُونَ مِنْ عَمَلٍ إِلَّا كُنَّا عَلَيْكُمْ شُهُودًا إِذْ تُفِيضُونَ فِيهِ وَمَا يَعْزُبُ عَنْ رَبِّكَ مِنْ مِثْقَالِ ذَرَّةٍ فِي الْأَرْضِ وَلَا فِي السَّمَاءِ وَلَا أَصْغَرَ مِنْ ذَلِكَ وَلَا أَكْبَرَ إِلَّا فِي كِتَابٍ مُبِينٍ - ٦١

Artinya: “Dan tidakkah engkau (Muhammad) berada dalam suatu urusan, dan tidak membaca suatu ayat al-Quran serta tidak pula kamu melakukan suatu pekerjaan, melainkan Kami menjadi Saksi atasmu ketika kamu melakukannya. Tidak lengah sedikitpun dari pengetahuan Tuhan-mu biarpun sebesar zarah, baik di bumi ataupun di langit. Tidak ada sesuatu yang lebih kecil dan yang lebih besar daripada itu, melainkan semua tercatat dalam Kitab yang nyata (Lauh Mahfuzh)” (QS. Yunus (10): 61).

Kata *zarah* artinya seberat timbangan atom atau disebut juga seekor semut merah kecil. Seperti yang dijelaskan dalam tafsir surah An-Nisaa' bahwa “Di bumi maupun

di langit, tidak ada yang lebih kecil dan tidak (pula) yang lebih besar dari itu.” (Al-Qurthubi, 2009). Kata *zarah* pada ayat di atas dapat diartikan sebagai substansi yang paling kecil yang disebutkan dalam Al-Qur’an. Hal tersebut merupakan petunjuk untuk mempelajari mikroorganisme dan materi mikrokosmos lainnya. Al-Qur’an menunjukkan bahwa *dzarrah* merupakan materi terkecil sehingga masih ada substansi potensial yang lebih kecil dibandingkan dengan sel (Subandi, 2010).

Bakteri endofit biasanya masuk pertama kali melalui perakaran sekunder dengan mengeluarkan enzim selulase atau pektinase, atau bagian atas tanaman seperti batang, bunga, radikel kecambah, stomata ataupun kotiledon dan daun yang sobek. Bakteri kemudian berkoloni di titik tempat bakteri tersebut masuk atau menyebar ke seluruh tanaman, hidup dalam sel, ruang interseluler atau dalam sistem pembuluh (Yulianti, 2012).

2.2.2 Potensi Bakteri Endofit

Bakteri endofit dilaporkan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman. Bakteri ini mampu menghasilkan nutrisi bagi tanaman, seperti nitrogen, fosfat dan mineral lainnya serta menghasilkan hormon pertumbuhan seperti etilen, auksin dan sitokinin (Thakuria *et al.*, 2004). Bakteri endofit dianggap sebagai solusi alternatif yang ramah lingkungan untuk mengurangi dampak negatif dari penggunaan pupuk kimia pada sektor pertanian (Ngoma *et al.*, 2014).

Berdasarkan penelitian Muangthong *et al.* (2015), didapatkan bakteri endofit yang dapat menambat nitrogen dari daun, batang dan akar tebu. Penelitian Vionita *et al.* (2013) menunjukkan bahwa bakteri endofit dari akar tanaman ubi jalar (*Ipomoea batatas*) varietas Papua Patippi memiliki kemampuan akumulasi amonium. Asosiasi antara bakteri endofit diazotrof dengan tanaman akan menyebabkan akumulasi nitrogen pada tanaman sehingga kemampuan penyerapan unsur hara N meningkat.

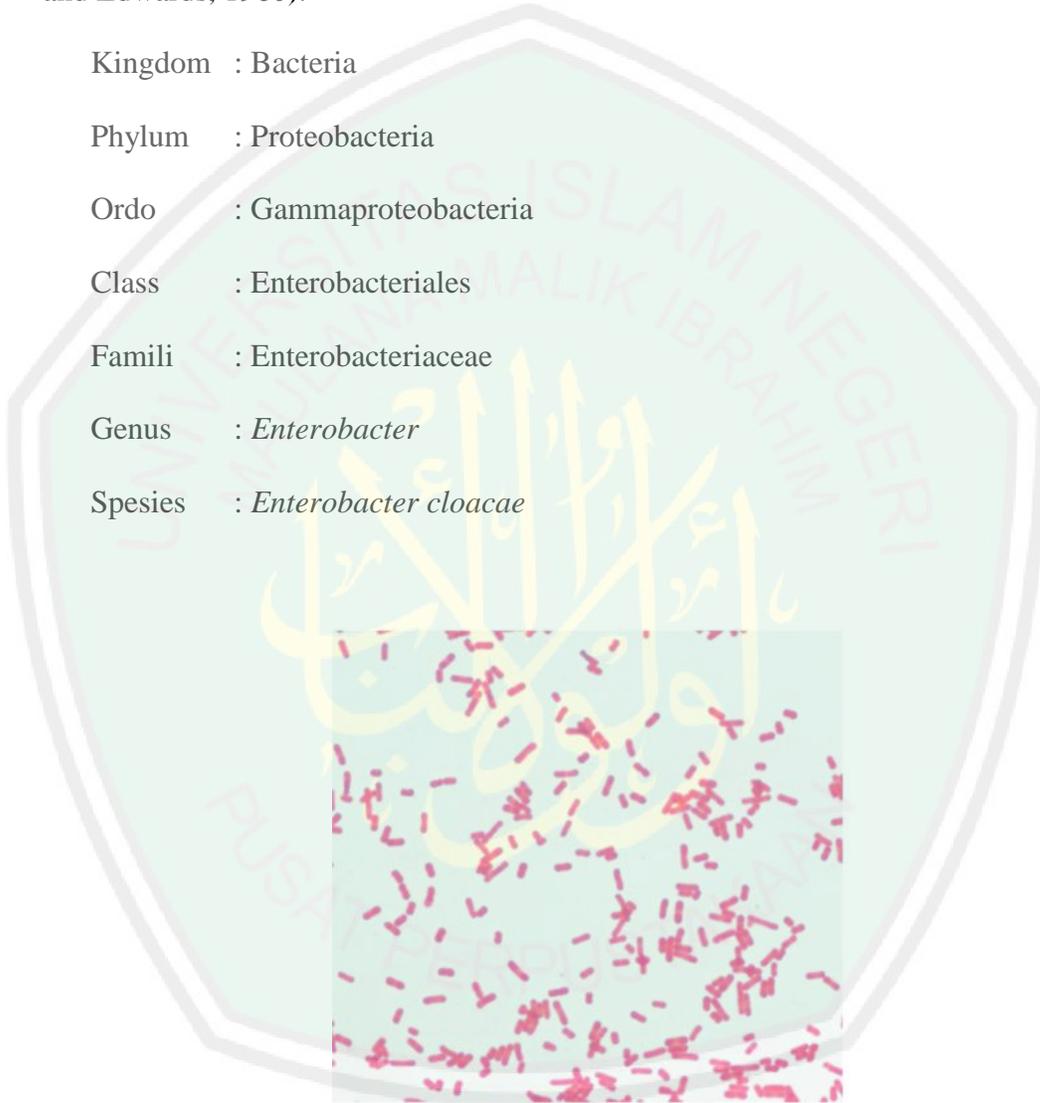
Beberapa bakteri endofit mampu menghasilkan hormon IAA, antara lain berasal dari genus *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Azospirillum*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*, dan *Micrococcus* (Tsavkelova *et al.* 2006). Khairani (2009) melaporkan bahwa bakteri endofit dari akar tanaman jagung mampu menghasilkan hormon IAA hingga mencapai 1,126 ppm. Sementara itu, bakteri endofit yang diisolasi dari batang padi mampu menghasilkan hormon IAA yang lebih tinggi, yaitu 8,295 ppm (Susilowati *et al.*, 2003). Bakteri endofit yang diisolasi dari akar tanaman jagung dari genus *Pseudomonas* dan *Bacillus* diketahui mampu meningkatkan panjang akar dan bobot basah tanaman jagung (Saylendra dan Firnia, 2013).

Bakteri endofit dari suatu tanaman diketahui mempunyai potensi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman yang bukan inangnya. Berdasarkan penelitian Murthi *et al.* (2015), bakteri endofit nilam dapat meningkatkan laju pertumbuhan tinggi tanaman dan jumlah daun tanaman tembakau. Gusmaini *et al.* (2007) juga menyatakan bahwa bakteri endofit yang berasal dari tanaman ekosistem air tawar mempunyai potensi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi.

2.2.3 *Enterobacter cloacae*

Klasifikasi dari bakteri *Enterobacter cloacae* adalah sebagai berikut (Hormaeche and Edwards, 1960):

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Ordo : Gammaproteobacteria
 Class : Enterobacteriales
 Famili : Enterobacteriaceae
 Genus : *Enterobacter*
 Spesies : *Enterobacter cloacae*



Gambar 2.4 Morfologi *Enterobacter cloacae* (Brook *et al.*, 2010)

Enterobacter merupakan genus yang umumnya bersifat gram negatif, anaerob fakultatif, berbentuk batang, motil dan tidak menghasilkan spora (Regli dan Pages, 2015). Bakteri ini juga mampu menggunakan berbagai macam karbohidrat, seperti

sukrosa, rafinosa, pentosa, xilosa, dan sebagainya (Ogbo dan Okonkwo, 2012). *E. cloacae* ditemukan secara luas di alam, tetapi *Enterobacter* juga termasuk bakteri yang bersifat patogen. Bakteri tersebut merupakan bakteri yang dapat menyebabkan infeksi nosokomial (Regli dan Pages, 2015). Bakteri tersebut juga dapat menyebabkan penyakit pada beberapa tanaman, seperti bawang bombai, jahe, pepaya, dan macadamia. *E. cloacae* diketahui resisten pada beberapa jenis antibiotik, antara lain ampicillin, erythromycin, rifampicin, dan sulfametoxazole (Humann *et al.*, 2011).

Selain dikenal sebagai bakteri patogen, *E. cloacae* juga dikenal sebagai bakteri yang mempunyai kemampuan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman atau dikenal dengan *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB). Tanaman diketahui mengeluarkan eksudat berupa substansi yang bermacam-macam. Kemampuan bakteri dalam menggunakan bermacam-macam karbohidrat membuat bakteri tersebut dapat beradaptasi pada akar dari berbagai macam tanaman, Genus *Enterobacter* dapat ditemukan pada tanaman jagung, padi, mentimun, brokoli, dan sebagainya. Sifat *E. cloacae* yang resisten terhadap beberapa jenis antibiotik membuat bakteri tersebut mampu tahan terhadap antibiotik yang dikeluarkan oleh flora pesaing misalnya fungi (Ogbo dan Okonkwo, 2012).

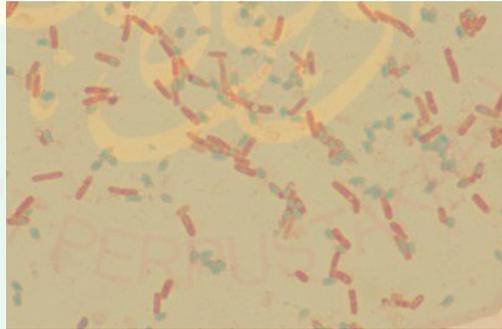
Pemanfaatan inokulum *Enterobacter* sebagai pemacu pertumbuhan tanaman jagung menunjukkan tanaman yang diberi inokulum memiliki kandungan N yang

lebih tinggi. *E. cloacae* diketahui memiliki gen *nif* yang berperan aktivitas enzim nitrogenase yang mengkatalisis proses fiksasi nitrogen (Ogbo dan Okonkwo, 2012).

2.2.4 *Bacillus cereus*

Klasifikasi dari *Bacillus cereus* adalah sebagai berikut (Madigan, 2005):

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Firmicutes
 Class : Bacilli
 Ordo : Bacillales
 Famili : Bacillaceae
 Genus : *Bacillus*
 Spesies : *Bacillus cereus*



Gambar 2.5 Morfologi *Bacillus cereus* (Todar, 2012)

Bacillus cereus merupakan bakteri gram positif, motil, berbentuk batang dan mampu menghasilkan spora (Rajkowski dan Bennett, 2003). *B. cereus* tersebar di alam dan dapat ditemukan di tanah dimana siklus hidup saprofit bakteri tersebut terjadi pada lingkungan ini (Vilain *et al.*, 2006). Spora yang dihasilkan membuat

bakteri tersebut lebih resisten pada cekaman lingkungan (Jenson dan Moir, 2003). *B. cereus* tumbuh dengan optimal pada lingkungan yang terdapat keberadaan oksigen. Tetapi, bakteri tersebut juga dapat hidup pada kondisi anaerobik. *B. cereus* yang hidup pada kondisi aerobik kurang resisten pada panas dan asam dibanding yang tumbuh secara anaerobik atau mikroaerobik (Mols *et al.*, 2009). *B. cereus* yang ditemukan pada makanan dan manusia dibagi menjadi dua, yakni mesofilik dan psikrotrofik. Bakteri mesofilik tumbuh dengan baik pada suhu 37°C tapi tidak tumbuh pada suhu 10°C, sedangkan bakteri psikrotrofik tumbuh dengan baik di dalam suhu lemari es (Wijnands *et al.*, 2006).

Bacillus cereus merupakan salah satu *Plant Growth Promoting Bacteria* (PGPB) yang mampu memproduksi hormon pemacu pertumbuhan tanaman yaitu IAA. *Bacillus cereus* merupakan PGPB yang mampu memproduksi hormon pemacu pertumbuhan tanaman yaitu IAA. Aryantha (2002) menyatakan bahwa *Bacillus cereus* mampu memproduksi hormon IAA dan merangsang pertumbuhan tanaman tomat. *Bacillus cereus* yang hidup di daerah perakaran tanaman menyumbangkan unsur hara sehingga kebutuhan hara tanaman tercukupi untuk pertumbuhan dan perkembangannya (Patten dan Glick, 2002). Inokulasi *Bacillus cereus* mampu bersimbiosis dengan akar tanaman, melindungi akar dari patogen dan memproduksi fitohormon seperti IAA, sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman dan berahir dengan hasil tanaman yang optimal (Yazdani *et al.*, 2009).

Bacillus cereus merupakan bakteri yang bersifat patogen bagi beberapa organisme. *Bacillus cereus* dapat tumbuh pada makanan siap santap dan membentuk toksin di dalamnya. Ada dua macam toksin yang dihasilkan oleh *Bacillus cereus* yang dapat menyebabkan keracunan, yaitu toksin emetik penyebab muntah selama 2-6 jam setelah dikonsumsi dan toksin penyebab diare bereaksi setelah 12-24 jam setelah dikonsumsi. Dampak negatif *Bacillus cereus* dapat dicegah dengan pemasakan yang dapat membunuh sel vegetatif dan yang dapat mencegah germinasi spora kemudian pendinginan yang cepat sehingga memberikan kejutan dan pada suhu refrigerator (Ruriani dan Nurhayati, 2010).

2.3 Pupuk Hayati

Pupuk berperan sebagai katalisator dalam menyediakan nutrisi bagi tumbuhan untuk pertumbuhan dan hasil optimum tumbuhan. Pupuk secara umum digolongkan menjadi tiga macam, yaitu kimia, organik, dan pupuk hayati. Setiap jenis memiliki kelebihan dan kekurangan. Pupuk hayati merupakan suatu produk yang mengandung sel hidup dari jenis mikroorganisme yang berbeda yang mempunyai kemampuan untuk memobilisasi zat hara penting dari bentuk yang tidak dapat digunakan oleh tanaman melalui tekanan biologis. Pupuk hayati tersebut dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil tanaman (Mishra, 2014).

Mikroorganisme yang umum digunakan sebagai bahan aktif pupuk hayati adalah mikroba penambat nitrogen, pelarut fosfat, dan pemantap agregat. Mikroba penting

penyusun pupuk hayati diantaranya adalah *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., sebagai bakteri pelarut fosfat; *Rhizobium* sp., *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp., dan *Acetobacter* sp., sebagai penambat nitrogen; *Celulomonas* sp., *Lactobacillus* sp., perombak bahan organik dan mikroba penghasil antibiotik maupun hormon pertumbuhan (Maharani *et al.*, 2012).

Pemanfaatan bakteri penambat nitrogen dan sekaligus dapat melarutkan fosfat serta potensial memproduksi hormon IAA akan memudahkan dalam memberikan pupuk organik hayati bagi suatu tanaman, karena didapat keuntungan ganda yaitu dapat menyediakan unsur N dan P serta pemacu pertumbuhan (hormon IAA) (Widawati, 2015). Permatasari dan Nurhidayati (2014) menerangkan bahwa penggunaan inokulan bakteri penambat nitrogen, bakteri pelarut fosfat, dan mikoriza memberikan pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan tanaman cabai dalam hal tinggi tanaman, diameter batang, dan berat kering tanaman.

Kelebihan penggunaan pupuk hayati, antara lain menyediakan nutrisi yang lebih seimbang sehingga membantu menjaga kesehatan tanaman; meningkatkan aktivitas biologis tanah sehingga dapat meningkatkan mobilisasi nutrisi dari sumber organik maupun kimia dan dekomposisi dari bahan beracun; meningkatkan struktur tanah sehingga pertumbuhan akar menjadi lebih baik; meningkatkan kolonisasi mikoriza sehingga penyediaan fosfor meningkat; meningkatkan kandungan bahan organik dari tanah sehingga meningkatkan kemampuan perubahan nutrisi, meningkatkan penyimpanan air tanah, merangsang agregasi tanah dan buffering tanah, melawan

asiditas, alkalinitas, salinitas, pestisida, dan logam berat beracun; melepaskan nutrisi secara perlahan dan menambah sisa nitrogen dan fosfor organik dalam tanah, mengurangi kehilangan nitrogen dan fosfor akibat pencucian tanah; menyediakan mikronutrien; mendorong pertumbuhan mikroorganisme yang bermanfaat dan cacing tanah; membantu menekan penyakit tumbuhan dan parasit (Mishra, 2014).

Kekurangan dari penggunaan pupuk hayati, antara lain dibutuhkan jumlah pupuk hayati yang cukup banyak untuk menyediakan nutrisi yang cukup untuk pertumbuhan tanaman; laju pelepasan nutrisi sangat lambat untuk tanaman yang berumur pendek, sehingga dapat menyebabkan terjadinya defisiensi nutrisi; harganya relatif lebih mahal dibanding pupuk kimia (Chen, 2006 dalam Mishra, 2014).

Umumnya aplikasi bakteri endofit dilakukan melalui perlakuan benih, penyiraman ke tanah, penyemprotan suspensi, dan perendaman akar. Keuntungan dari perlakuan benih, seperti perendaman akar (tanaman kultur jaringan), perendaman bibit, atau introduksi bakteri ke dalam tanah sebelum ditanam merupakan suatu usaha proteksi pada awal pertumbuhan tanaman (Hallmann, 2001). Aplikasi bakteri endofit *Enterobacter cloacae* pada tanaman jagung manis dilakukan dengan teknik perendaman pada kecambah jagung manis yang berumur 3 hari. Perendaman pada kecambah merupakan teknik yang dipilih dalam penelitian ini karena teknik tersebut adalah cara paling praktis karena mudah dan murah dibandingkan dengan teknik lain seperti teknik penyemprotan.

Hasil penelitian Joko *et al.* (2015) menunjukkan bahwa teknik perendaman pada akar kecambah memberikan rata-rata berat kering akar lebih baik dibandingkan dengan teknik penyiraman pada media tanam. Berat kering akar pada perlakuan perendaman mencapai 0,036 gram sedangkan pada perlakuan penyiraman hanya mencapai 0,031 gram. Hal tersebut dikarenakan dengan menggunakan teknik perendaman akan memberikan kesempatan pada bakteri endofit untuk melakukan kolonisasi pada akar melalui lubang alami maupun luka.

Bakteri endofit diinokulasikan pada tanaman jagung manis ketika tanaman tersebut masih berada pada tahap awal pertumbuhan, yaitu dalam fase perkecambahan. Hal tersebut dilakukan untuk meningkatkan keberhasilan proses kolonisasi bakteri endofit pada tanaman inang. Hastings dan Horrison (1994) menyatakan bahwa peningkatan keberhasilan proses kolonisasi yang dilakukan oleh bakteri endofit dapat dilakukan dengan inokulasi di tahap awal pertumbuhan tanaman.

2.4 Unsur Hara Nitrogen (N)

2.4.1 Tinjauan Umum

Nitrogen merupakan elemen penting untuk semua bentuk kehidupan dan termasuk nutrisi paling penting untuk pertumbuhan dan produktivitas tumbuhan. Meskipun nitrogen tersedia 78% di atmosfer, hal tersebut belum bisa digunakan oleh tumbuhan. Tidak ada tumbuhan yang mampu memfiksasi N_2 di atmosfer menjadi ammonia dan memanfaatkannya secara langsung untuk pertumbuhannya. Oleh

karena itu, nitrogen di atmosfer harus diubah terlebih dahulu menjadi bentuk yang dapat dimanfaatkan oleh tumbuhan dengan bantuan mikroorganisme penambat nitrogen (Gupta, *et al.*, 2015). Fungsi nitrogen bagi tanaman, antara lain untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman, dapat menyehatkan pertumbuhan daun, daun tanaman lebar dengan warna yang lebih hijau, meningkatkan kadar protein dalam tubuh tanaman, meningkatkan kualitas tanaman penghasil daun-daunan, dan meningkatkan perkembangbiakan mikroorganisme di dalam tanah (Kartasapoetra, 1987).

Nitrogen terdapat pada banyak senyawa penting pada tumbuhan, sehingga pertumbuhan tanaman akan melambat jika kekurangan unsur nitrogen. Tumbuhan yang mengandung cukup nitrogen untuk sekedar tumbuh saja akan menunjukkan gejala kekahatan, yakni klorosis biasa terutama pada daun tua. Pada kasus yang parah, daun menjadi kuning seluruhnya lalu agak kecoklatan saat mati (Salisbury dan Ross, 1995). Tumbuhan yang terlalu banyak mendapatkan nitrogen biasanya mempunyai daun berwarna hijau tua dan lebat, dengan sistem akar yang kerdil. Pembungaan dan pembentukan biji menjadi terlambat pada beberapa tanaman pertanian akibat kelebihan nitrogen. Jumlah ammonia yang terlalu banyak diaplikasikan ke tumbuhan akan dapat menyebabkan kerusakan bagi tumbuhan bahkan membunuh tumbuhan tersebut (Ngoma *et al.*, 2014).

2.4.2 Bakteri Penambat Nitrogen

Biological nitrogen fixation (BNF) merupakan proses mikrobiologis yang mengubah gas nitrogen di atmosfer menjadi bentuk yang dapat digunakan oleh tumbuhan. Proses tersebut dapat dilakukan oleh prokariot diazotrof, dimana nitrogen molekuler direduksi menjadi amonium secara biologis (Rosenblueth dan Romero, 2006). Diantara sel prokariotik yang dapat memfiksasi nitrogen alami antara lain eubacteria, cyanobacteria, dan actinomycetes. Umumnya organisme yang hidup bebas di tanah tetapi ada pula yang berasal dari bakteri endofit dimana nitrogen yang difiksasi digunakan untuk pertumbuhan bakteri. Bakteri tersebut bermanfaat bagi kesuburan tanah. Beberapa bakteri penambat nitrogen diketahui mampu hidup dan menyumbangkan 70% kebutuhan total N pada beberapa tanaman tebu (Ngoma *et al.*, 2014).

Fiksasi nitrogen secara biologis terbagi menjadi dua cara, yaitu simbiotik dan nonsimbiotik. Diantara kedua tipe dari BNF, tipe pertama merupakan mekanisme yang paling penting karena menghasilkan jumlah nitrogen tertinggi yang dapat difiksasi, tetapi mekanisme tersebut terbatas pada tanaman kacang-kacangan dan berbagai pohon serta semak yang membentuk akar aktinorizal dengan *Frankia*. Bakteri dari genus *Rhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Sinorhizobium* dan *Mesorhizobium* merupakan bakteri simbiotik yang sering dipelajari (Zahran, 1999).

Fiksasi nitrogen simbiotik merupakan hubungan mutualistik antara mikroba dengan tanaman. Mikroba masuk terlebih dahulu ke dalam akar dan selanjutnya

membentuk nodul (bintil) dimana fiksasi nitrogen terjadi. Rhizobia merupakan kelompok rhizobacteria yang mempunyai kemampuan untuk melakukan interaksi simbiotik melalui kolonisasi dan pembentukan bintil akar dengan tumbuhan kacang-kacangan, dimana nitrogen difiksasi menjadi ammonia dan membuatnya tersedia untuk tumbuhan (Gupta *et al.*, 2015).

Fiksasi nitrogen non-simbiotik dilakukan oleh bakteri penambat non-simbiotik yaitu mikroorganisme yang sanggup mengubah molekul nitrogen menjadi amonium tanpa bergantung pada organisme lain (Danapriatna, 2010). Bakteri tersebut dapat menstimulasi pertumbuhan tanaman non-legum seperti lobak dan padi. Bakteri fiksasi nitrogen non-simbiotik berasal dari genus *Azoarcus*, *Azotobacter*, *Acetobacter*, *Azospirillum*, *Burkholderia*, *Diazotrophicus*, *Enterobacter*, *Gluconacetobacter*, *Pseudomonas* and cyanobacteria (*Anabaena*, *Nostoc*) (Gupta *et al.*, 2015).

2.4.3 Mekanisme Penambatan Nitrogen

Tanaman dapat memanfaatkan nitrogen dalam bentuk nitrat (NO_3^-) dan ammonia (NH_4^+). Ammonia dapat dihasilkan dari beberapa proses seperti, ammonifikasi nitrit, degradasi bermacam-macam asam amino, dekarboksilasi asam amino untuk menghasilkan biogenesis amina seperti ammonia, deaminasi, dan degradasi hidrolisis urea dengan bantuan urease. Bentuk ammonia tersebut tidak dapat diasimilasi oleh tumbuhan tetapi dapat tersedia melalui fiksasi nitrogen alami yang hanya sel prokariotik yang dapat mengembangkannya (Ngoma *et al.*, 2014).

Menurut Hamdi (1982), untuk terjadinya proses penambatan nitrogen dibutuhkan beberapa syarat, yaitu (1) adanya enzim nitrogenase; (2) ketersediaan sumber energi; (3) adanya sumber penurun potensial dan elektron; (4) adanya sistem perlindungan enzim nitrogenase dari inaktivasi oleh oksigen; dan (5) pemindahan yang cepat terhadap nitrogen hasil tambatan dari tempat penambatan nitrogen untuk mencegah terhambatnya enzim nitrogenase. Mekanisme penambatan nitrogen secara biologis dapat digambarkan dalam persamaan di bawah ini (Gambar 2.5).



Gambar 2.6 Perubahan Nitrogen Secara Biologis dan Kimiawi (Danapriatna, 2010)

Enzim yang berperan penting dalam penambatan nitrogen adalah nitrogenase yang terdapat dalam sel bakteri penambat nitrogen. Nitrogenase disusun oleh dua komponen yang saling menunjang, yaitu protein Fe (komponen I) dan protein Mo-Fe (komponen II) (Hamdi, 1982). Protein Fe memiliki dua subunit yang masing-masing subunitnya berisi satu kluster besi-belerang (4 Fe dan 4 S²⁻), sedangkan protein Mo-Fe mempunyai empat subunit yang masing-masing subunitnya mempunyai dua kluster Mo-Fe-S (Taiz dan Zeiger, 2004). Kedua protein tersebut tidak menjadi tidak aktif oleh O₂. Diduga dua molekul protein Fe akan bersenyawa dengan 1 molekul Mo-Fe untuk membentuk nitrogenase aktif di dalam sel-sel bakterioid (Hamdi, 1982). Gen fiksasi nitrogen disebut gen *nif* yang ditemukan baik pada sistem simbiotik maupun non-simbiotik. Gen nitrogenase (*nif*) termasuk gen struktural, terlibat dalam aktivasi

protein Fe, biosintesis kofaktor besi molybdenum, penyerahan elektron, dan gen pengatur yang dibutuhkan untuk sintesis dan fungsi enzim (Gupta *et al.*, 2015).

Proses fiksasi nitrogen dengan adanya enzim nitrogenase terjadi sebagai berikut: (1) energi ATP dan elektron feredoksin mereduksi protein Fe menjadi reduktan (2) reduktan ini mereduksi protein MoFe yang kemudian mereduksi N₂ menjadi NH₄ dengan hasil sampingan berupa gas H₂, dan (3) bersamaan dengan itu terjadi reduksi asetilen menjadi etilen yang dapat digunakan sebagai indikator proses fiksasi N₂ secara biologis (Marschner, 1986).

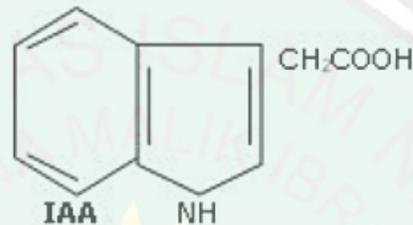
2.5 Hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*)

2.5.1 Tinjauan Umum

Zat pengatur tumbuh merupakan senyawa yang pada konsentrasi rendah mampu menimbulkan respon fisiologi tanaman. Senyawa ini bekerja secara lokal, di sekitar tempat sintesis, dan atau jaringan lain. Zat pengatur tumbuh adalah regulator penting bagi tanaman dalam merespon kondisi biotik dan abiotik. Beberapa zat pengatur tumbuh, antara lain asam absisat (ABA), indole-3-acetic acid (IAA atau auksin), brasinosteroid (BRs), sitokinin, giberelin (GA), etilen, asam jasmonat (JA), dan asam salisilat (Santner *et al.* 2009).

Hormon IAA (*Indol-3-acetic acid*) adalah zat auksin endogen yang terdapat pada tanaman. IAA termasuk fitohormon golongan auksin alami (senyawa organik bukan nutrisi) yang aktif dalam jumlah kecil dan dapat meningkatkan sintesis DNA dan

RNA, serta meningkatkan pertukaran proton (Salisbury dan Ross, 1995). IAA tidak hanya dihasilkan oleh tumbuhan, tetapi dapat dihasilkan oleh beberapa bakteri, di antaranya bakteri endofit, rizosfer, dan nonsimbion. IAA juga dapat dihasilkan oleh bakteri fitopatogen (Tsavkelova *et al.*, 2006).

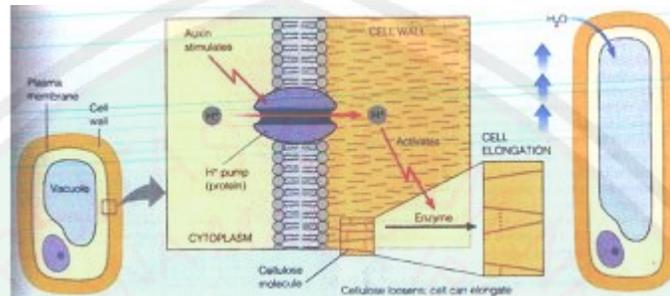


Gambar 2.7 Struktur Kimia Hormon IAA (Khairani, 2009)

IAA berpengaruh pada pembelahan, pemanjangan, dan diferensiasi sel; menstimulasi biji dan perkecambahan umbi; meningkatkan laju pertumbuhan xylem dan akar; mengatur proses pertumbuhan vegetatif; menginisiasi pembentukan akar lateral dan adventisia; memediasi respon cahaya, gravitasi, dan fluoresensi; mempengaruhi fotosintesis, biosintesis berbagai metabolit, ketahanan terhadap kondisi cekaman (Gupta *et al.*, 2015), meningkatkan kandungan osmotik sel, meningkatkan permeabilitas air ke dalam sel, menurunkan tekanan dinding sel dan meningkatkan sintesis dinding sel (Damam *et al.*, 2016).

Hormon IAA berperan dalam proses pemanjangan sel tanaman. Mekanisme kerja IAA dalam mempengaruhi pemanjangan sel-sel tanaman adalah sebagai berikut. IAA memacu protein tertentu pada membran plasma sel tumbuhan untuk memompa ion H^+ ke dinding sel. Ion H^+ tersebut mengaktifkan enzim tertentu, sehingga memutuskan ikatan silang hidrogen rantai molekul selulosa penyusun dinding sel. Sel

tumbuhan kemudian mengalami pemanjangan akibat dari air yang masuk secara osmosis. Setelah pemanjangan, sel terus tumbuh dengan mensintesis kembali material dinding sel dan sitoplasma (Pamungkas *et al.*, 2009).



Gambar 2.8 Mekanisme Kerja Auksin dalam Mempengaruhi Perpanjangan Sel (Fathonah, 2008)

2.5.2 Bakteri Penghasil Hormon IAA

Kemampuan dalam menghasilkan hormon IAA tersebar diantara mikroorganisme dan telah ditemukan pada semua tumbuhan tingkat tinggi, algae, fungi, dan bakteri. Banyak mikroba epifit dan mikroba tanah mampu mensintesis dan mensekresi hormon IAA. Kemampuan mensintesis hormon IAA juga telah ditemukan pada banyak rhizobakteri baik patogenik, simbiotik maupun spesies bakteri yang hidup bebas (Costacurta dan Venderleyden, 1995).

Tanaman memenuhi kebutuhan hormon pertumbuhannya melalui kemampuannya dalam mensintesis hormon auksin dari mikroorganisme yang berada dalam jaringannya. Mikroba yang mampu menghasilkan hormon IAA dapat meningkatkan pertumbuhan dan perpanjangan akar sehingga permukaan akar menjadi lebih luas dan akhirnya tanaman mampu menyerap nutrisi dari dalam tanah lebih banyak (Bolero *et al.*, 2007). Produksi IAA yang rendah dari bakteri dapat merangsang pemanjangan

akar primer, sedangkan jumlah IAA yang tinggi meningkatkan pembentukan akar lateral dan adventisia tetapi menghambat pertumbuhan akar primer (Xie *et al.*, 1996 dalam Ngoma *et al.*, 2014).

Hormon IAA merupakan produk dari metabolisme L-triptofan (Damam *et al.*, 2016). Triptofan, asam amino yang sering ditemukan pada eksudat akar, merupakan molekul prekursor untuk biosintesis IAA pada bakteri. Bakteri yang hidup bebas yang memacu pertumbuhan akar, misalnya *Alkaligenes faecalis*, *Enterobacter cloacae*, *Acetobacter diazotrophicus*, spesies dari *Azospirillum*, *Pseudomonas* dan *Xanthomonas* sp. dapat mensekresi hormon IAA dalam jumlah rendah. (Gupta, *et al.*, 2015).

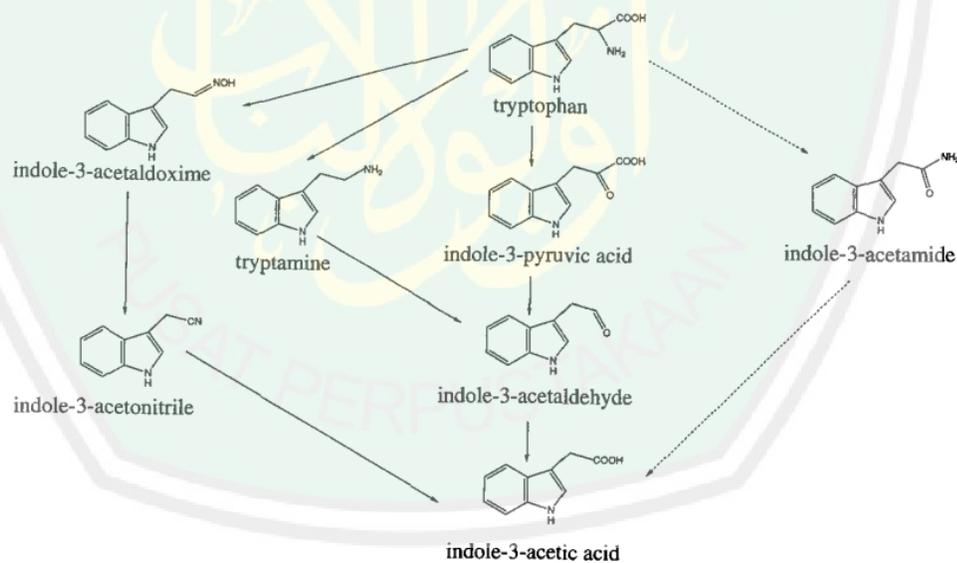
Biosintesis hormon IAA didukung oleh adanya unsur nitrogen sebagai salah satu penyusun triptofan (Lakitan, 2008). Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA didukung potensi bakteri endofit dalam penambatan nitrogen, karena amonium yang dihasilkan akan digunakan untuk menyusun hormon IAA (Anggara *et al.*, 2014 dalam Vionita *et al.*, 2013). *Rhizobium*, *Azospirillum* dan *Azotobacter* merupakan bakteri yang dapat mengikat nitrogen bebas dari udara sehingga tanaman dapat mencukupi kebutuhan nitrogennya. Ketiga bakteri tersebut juga dapat menghasilkan hormon pertumbuhan seperti IAA (Widawati *et al.*, 2015).

2.5.3 Mekanisme Produksi Hormon IAA oleh Bakteri

Triptofan merupakan prekursor utama dalam biosintesis IAA pada bakteri (Spaepen *et al.*, 2007). Hal tersebut karena penambahan triptofan pada kultur bakteri penghasil IAA merangsang terjadinya peningkatan sintesis IAA (Danapriatna, 2014). Biosintesis hormon IAA oleh bakteri endofit dapat dilakukan apabila terdapat prekursor dari hormon tersebut. Triptofan merupakan prekursor fisiologis IAA, baik pada tanaman maupun pada mikroorganisme. Menurut Ghosh *et al.* (2015), bakteri lebih sering menggunakan L-triptofan dibandingkan dengan D-triptofan dan DL-triptofan untuk pertumbuhannya dan memproduksi hormon IAA. Penambahan L-triptofan pada media kultur dapat meningkatkan produksi IAA (Patten dan Glick, 2002). Junior *et al.* (2015) mengisolasi bakteri genus *Bacillus* dari sampel tanah yang berbeda. Pada isolat yang sama, hormon IAA yang dihasilkan pada media dengan pemberian triptofan sebesar 150mg/L ialah 71µg/ml, sedangkan pada media dengan penambahan 10mg/L hanya menghasilkan 17µg/ml. Hal tersebut menunjukkan bahwa triptofan merupakan prekursor utama dari sintesis hormon IAA oleh bakteri.

Bakteri endofit membutuhkan dua mekanisme dalam menghasilkan hormon IAA ekstraseluler, yaitu mensintesis IAA dalam sel kemudian mentransfer IAA tersebut keluar sel. Kedua mekanisme tersebut dilakukan secara enzimatik dan dikendalikan secara genetik. Biosintesis hormon IAA melalui 4 jalur, sedangkan untuk transpor metabolit (IAA) ekstraseluler dibutuhkan sistem transpor membran sel yang terdiri dari *simportter* dan *antiporter* dengan *carier* protein (Ikhwan, 2006).

Biosintesis IAA oleh bakteri terjadi melalui beberapa jalur, yaitu (1) indole-3-pyruvate (IPA); (2) indole-3-acetonitrile (IAN); (3) tryptamine (TAM); (4) indole-3-acetamide (IAM) (Spaepen *et al.*, 2007). Lintasan indole-3-pyruvate (IPA) merupakan lintasan umum pada mikroorganisme seperti *Enterobacter cloacae* dan *Azospirillum*, sedangkan lintasan IAM merupakan lintasan yang digunakan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dan *Pseudomonas syringae* dalam mensintesis IAA (Patten dan Glick, 2002). *Bacillus cereus* menggunakan lintasan *indole-3-acetonitrile* (IAN) dalam mensintesis hormon IAA (Duca *et al.* 2014). Skema keempat jalur tersebut dapat dilihat pada gambar 2.9



Gambar 2.9 Jalur Biosintesis IAA dari Tryptofan yang Dilakukan oleh Mikroorganisme (Normanly *et al.*, 1995)

Proses biosintesis IAA dari keempat jalur tersebut dijelaskan oleh Spaepen *et al.* (2007) dan Normanly *et al.* (1995) sebagai berikut:

1. Jalur indole-3-acetamide (IAM): jalur terbaik dari biosintesis IAA oleh bakteri. Jalur ini terdiri dari dua tahap, pertama triptofan dikonversikan menjadi IAM oleh enzim triptofan-2-monooxygenase (IaaM) yang dikode oleh gen *iaaM*. Tahap kedua ialah mengkonversi IAM menjadi IAA dengan bantuan enzim IAM hidrolase (IaaH) yang dikode oleh gen *iaaH*.
2. Jalur indole-3-pyruvate (IPyA): jalur utama untuk biosintesis IAA dalam tanaman. Produksi IAA melalui jalur IPyA terjadi pula secara meluas pada bakteri. Tahap pertama dalam jalur ini adalah konversi dari triptofan menjadi IPyA oleh aminotransferase (transamination). Dalam tahap berikutnya, IPyA mengalami dekarboksilasi menjadi indole-3-acetaldehyde (IAAId) oleh indole-3-pyruvate decarboxylase (*ipdC*). Langkah terakhir adalah IAAId dioksidasi menjadi IAA.
3. Jalur tryptamine (TAM): jalur biosintesis IAA pada bakteri yang dimulai dengan proses dekarboksilasi triptofan menjadi tryptamine. Langkah terakhir adalah TAM secara langsung dikonversi menjadi IAA oleh enzim amine oxidase.
4. Jalur indole-3-acetonitrile (IAN): jalur konversi dari IAN menjadi IAA. Pada bakteri, nitrilase dideteksi dengan jelas untuk pembentukan indole-3-acetonitrile. Aktivitas nitrile hidratase dan amidase yang teridentifikasi pada bakteri menandakan terjadinya konversi dari IAN ke IAA melalui IAM.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian potensi bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) *Enterobacter cloacae* dan *Bacillus cereus* penambat N₂ di udara dan penghasil hormon IAA dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung ini merupakan penelitian eksperimental. Rancangan penelitian yang digunakan adalah deskriptif kuantitatif. Hasil penelitian berupa deskripsi yang ditunjukkan dengan angka-angka kuantitatif sebagai hasil penelitian.

Isolat bakteri yang digunakan berupa isolat tunggal dan isolat campuran. Pengujian dilakukan untuk menguji kemampuan bakteri endofit dalam menambat N₂ di udara dideteksi dengan pertumbuhan bakteri endofit pada media M63 tanpa penambahan mineral nitrogen yang diukur dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 420 nm. Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA secara *in vitro* yang dideteksi dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 535 nm menggunakan spektrofotometer. Isolat yang paling optimum pada uji secara *in vitro* akan dilakukan pengujian secara *in vivo* pada tanaman jagung. Parameter pengamatan yang digunakan adalah panjang akar, tinggi tanaman, jumlah daun, berat kering tajuk tanaman dan warna daun.

3.2 Variabel Penelitian

Penelitian ini menggunakan tiga variabel:

- 1) Variabel bebas (*independent variabel*) dalam penelitian ini adalah spesies bakteri endofit (*Bacillus cereus* dan *Enterocabter cloacae*) serta jenis isolat yang digunakan (isolat tunggal dan isolat campuran).
- 2) Variabel terikat (*dependent variabel*) dalam penelitian ini antara lain:
 - a) Uji kemampuan bakteri endofit dalam menambat N₂ di udara diukur berdasarkan pertumbuhan bakteri endofit yang dideteksi dengan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 420 nm dengan spektrofotometer.
 - b) Uji kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA secara kualitatif dideteksi dengan adanya perubahan warna supernatan kultur bakteri setelah diberi tambahan reagen salkowski.
 - c) Uji kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA secara kuantitatif diukur berdasarkan nilai absorbansi pada panjang gelombang (λ) 535 nm dengan spektrofotometer yang dikonversikan dengan kurva standard hormon IAA dan menghasilkan konsentrasi hormon IAA.
 - d) Uji kemampuan bakteri endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung dengan parameter panjang akar, tinggi tanaman, jumlah daun, berat kering tajuk tanaman dan warna daun.
- 3) Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah media tanam dan volume air yang disiramkan.

3.3 Waktu dan Tempat

Penelitian ini dilakukan pada Mei- Juli 2017 di laboratorium mikrobiologi, laboratorium genetika, greenhouse Jurusan Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang dan Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

3.4 Alat dan Bahan

3.4.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian kali ini, antara lain: cawan petri, tabung reaksi, labu erlenmeyer, jarum ose, pipet tetes, inkubator, *shaker incubator*, sentrifuse, spektrofotometer, kuvet, bunsen, timbangan analitik, *hot plate*, *laminar air flow*, autoklaf, vortex, polybag 2kg, penggaris.

3.4.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian kali ini, antara lain: isolat bakteri endofit rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) (*Bacillus cereus* dan *Enterobacter cloacae*), benih jagung manis (*Zea mays saccharata* Sturt.), media NA (*Nutrient Agar*), media TSB (*Tryptic Soy Broth*) (pepton 10 g, NaCl 2,5 g, akuades 1 liter), media M63 (KH_2PO_4 100 mM, KOH 75 mM, MgSO_4 0,16 mM, FeSO_4 3,9 mM dan glukosa 100mM), hormon IAA sintetis, reagen Salkowski (150 ml H_2SO_4 , 250 ml

aquades, 7,5 ml $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), L-triptofan, larutan standar 0,5 McFarland, NaOCl, aluminium foil, *plastic wrap*, kapas, tanah, kompos, alkohol 75%.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Pembuatan Media Pertumbuhan

Media NA ditimbang sebanyak 23 gram dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan ditambahkan aquades hingga volume 1 liter. Tabung erlenmeyer dipanaskan di atas hotplate hingga mendidih sambil dihomogenisasi menggunakan strirer. Media yang telah mendidih ditutup dengan kapas yang dibungkus dengan kasa dan dilapisi dengan plastik wrap kemudian disterilisasi.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian harus disterilkan terlebih dahulu. Alat-alat yang terbuat dari gelas dibungkus dengan plastik yang tahan panas kemudian diikat dengan rapat. Khusus cawan petri harus dibungkus terlebih dahulu dengan kertas dan dimasukkan ke dalam plastik. Bahan atau media yang digunakan dalam menumbuhkan bakteri setelah direbus hingga mendidih dan tabung erlenmeyer ditutup dengan kapas kemudian dimasukkan ke dalam plastik tahan panas dan diikat dengan rapat. Semua alat dan bahan dimasukkan ke dalam autoklaf untuk disterilisasi selama 15 menit dengan suhu 121°C dan tekanan 1 atm.

3.5.3 Uji Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menambat N₂ di udara

Isolat bakteri endofit ditumbuhkan pada media TSB dan diinkubasi dalam *shaker incubator* selama 24 jam dan disentrifugasi dengan kecepatan 10.000 g untuk memisahkan antara media tumbuh dengan sel bakteri. Hasil dari sentrifugasi berupa supernatan dan pellet. Supernatan merupakan media tumbuh bakteri, sedangkan pellet merupakan sel bakteri. Pellet yang terbentuk diambil 1 ose dan ditumbuhkan pada 100 ml media cair M63 tanpa penambahan mineral nitrogen. Selama 7 hari dilakukan penghitungan jumlah bakteri menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang (λ) 420 nm (Ikhwan, 2006; Suriaman, 2010).

3.5.4 Uji Kemampuan Bakteri Endofit dalam Menghasilkan Hormon IAA

Isolat bakteri diinokulasikan pada 100 ml *Tryptic Soy Broth* (TSB) dan digoyang pada *orbital shaker* selama 24 jam, sebanyak 1 ml kultur bakteri dipindah pada 100 ml TSB baru dengan penambahan 5 ml L-Triptofan sebagai prekursor IAA. Media TSB tanpa inokulasi bakteri digunakan sebagai kontrol. Perlakuan tersebut diinkubasi pada suhu 28°C selama 7 hari dalam *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm. Setiap hari dalam 7 hari tersebut dilakukan pengukuran konsentrasi hormon IAA. Sebanyak 1,5 ml kultur bakteri dipindah ke tabung eppendorf steril dan disentrifugasi dengan kecepatan 7.000 rpm selama 7 menit. Hasil dari sentrifugasi berupa supernatan dan pellet. Supernatan merupakan media tumbuh bakteri yang diduga mengandung hormon IAA, sedangkan pellet merupakan sel bakteri. Sebanyak 1 ml

supernatan dicampur dengan 2 ml reagen salkowski (Gordon dan Weber, 1951). Larutan tersebut didiamkan selama 25 menit pada tempat gelap. Munculnya warna merah muda menunjukkan produksi hormon IAA (Mohite, 2013).

Nilai absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 535 nm dan dibandingkan dengan kurva standar untuk menentukan konsentrasi hormon IAA. Kurva standar IAA dibuat dengan melarutkan 0,004 gram IAA sintetis dalam 500 ml akuades. IAA sintetis masing-masing dibagi dalam tabung yang berbeda dengan konsentrasi 0 ppm; 0,2 ppm sampai 2 ppm hingga volumenya mencapai 3 ml. masing-masing konsentrasi ditambahkan dengan 1 ml reagen salkowski kemudian dihomogenkan dan diukur absorbansinya.

3.5.5 Pembuatan Suspensi Bakteri

Kepadatan bakteri yang digunakan disetarakan dengan menggunakan larutan standar 0,5 Mc Farland. Biakan cair yang kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc Farland mempunyai populasi 1×10^8 cfu/ml. Larutan standar 0,5 Mc Farland dibuat dengan mencampur 9.95 ml larutan H_2SO_4 1% dengan 0,05 ml larutan BaCl 1% sehingga volumenya menjadi 10 ml, lalu dikocok hingga homogen. Larutan yang akan digunakan terlebih dahulu dikocok untuk membandingkan suspensi bakteri.

Pembuatan suspensi bakteri dilakukan dengan satu ose isolat bakteri yang sudah diremajakan pada media NA disuspensikan pada media NB dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu $37^\circ C$. Suspensi bakteri tersebut diencerkan pada akuades steril sampai

kekeruhannya setara dengan larutan standar 0,5 Mc Farland. Untuk memastikan kepadatan bakteri, dilakukan pengujian menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 600 nm. Nilai OD suspensi bakteri yang dihasilkan harus menunjukkan nilai 0,132 (Nuria, 2010).

3.5.6 Pengujian Bakteri Endofit pada Kecambah Tanaman Jagung

Kecambah jagung yang sudah berumur tiga hari disterilkan dengan natrium hipoklorit 5,3% selama 1 menit, kemudian dibilas dengan aquades steril selama 1 menit. Lalu direndam dengan alkohol 70% selama 15 detik dan dibilas dengan aquades steril sebanyak dua kali dan dikeringanginkan (Khairani, 2009).

Kecambah yang telah steril dicelupkan ke dalam suspensi bakteri selama 2 jam. Kecambah yang direndam dengan aquades steril tanpa suspensi dijadikan sebagai kontrol. Kecambah ditanam dalam polybag yang berisi tanah steril dan kompos steril dengan perbandingan 2:1 selama 3 minggu (Susilowati *et al.* 2003).

Tanah dan kompos disterilisasi dengan sterilisasi kering menggunakan oven. Tanah dan kompos dibungkus dengan plastik tahan panas dan dimasukkan ke dalam oven dalam suhu 70°C selama 3 jam/hari selama 3 hari berturut-turut (Cahyani, 2009).

3.5.7 Pengamatan

Pengamatan dilakukan 3 minggu setelah tanam. Parameter yang diamati ialah tinggi tanaman, panjang akar, jumlah daun, berat kering tajuk tanaman dan warna daun. Pengukuran tinggi tanaman diukur dari pangkal batang sampai ujung daun tertinggi (dalam sentimeter), sedangkan pengukuran panjang akar diukur dari pangkal akar sampai ujung akar terpanjang (dalam sentimeter). Jumlah daun dihitung secara manual pada daun yang telah terbuka secara sempurna. Pengukuran berat kering tajuk tanaman (pangkal batang ke atas) dilakukan dengan cara tanaman dikeringkan dalam oven pada suhu 80°C selama 48 jam (sampai berat konstan) kemudian ditimbang beratnya (dalam gram). Warna daun diamati secara manual dengan mengamati tingkat kecerahan warna daun.

3.6 Analisis Data

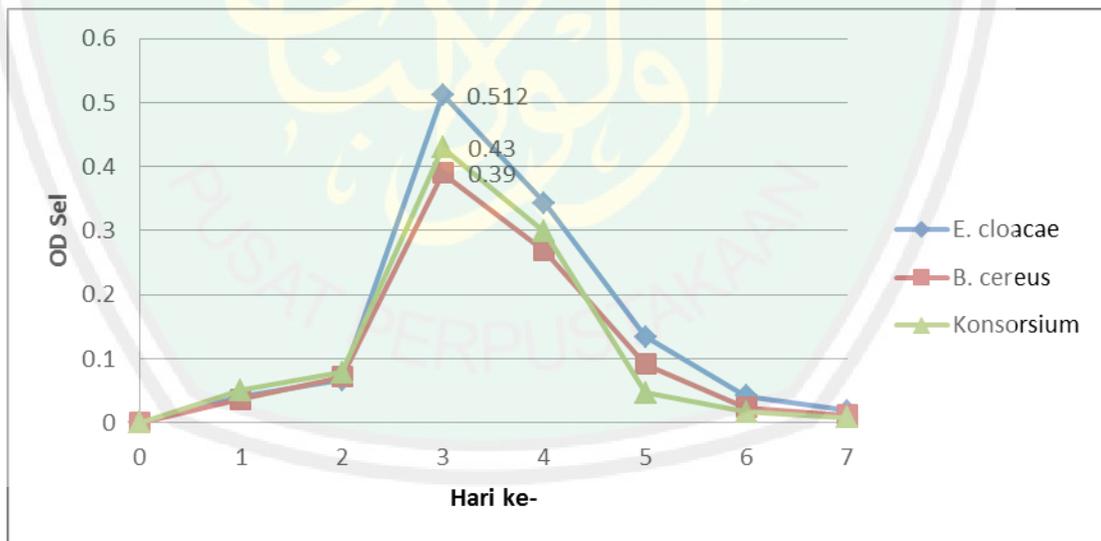
Data hasil pengujian diolah secara statistik menggunakan analisis keragaman (ANOVA) pada taraf nyata $\alpha=5\%$ menggunakan program *Statistical Program for Social Science (SPSS) for Windows versi 20.0*.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Potensi Bakteri Endofit dalam Memfiksasi N₂ di Udara

Hasil pengamatan pertumbuhan bakteri endofit pada media M63 cair bebas N menunjukkan bahwa ketiga isolat yang digunakan dapat tumbuh dengan baik. Hasil pengamatan tersebut mengindikasikan bahwa ketiga isolat tersebut memiliki kemampuan dalam memfiksasi N₂ di udara untuk memenuhi kebutuhan pertumbuhannya. Nilai OD sel dari ketiga isolat bakteri endofit bervariasi dan mengalami fluktuasi (Gambar 4.1). Hal tersebut disebabkan karena kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi N₂ di udara berbeda-beda.



Gambar 4.1 Nilai OD Isolat Bakteri Endofit pada Media M63 Cair Bebas Nitrogen

Nilai OD berbanding lurus dengan jumlah bakteri endofit yang tumbuh pada media M63. Apabila nilai OD sel tersebut tinggi, maka jumlah bakteri juga tinggi dan sebaliknya (Glickman dan Dessaux, 1995). Ketiga isolat bakteri memiliki nilai OD tertinggi pada hari ke-3. Isolat *Enterobacter cloacae* memiliki nilai OD lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lain yaitu sebesar 0,512. Sementara itu, isolat *Bacillus cereus* memiliki nilai OD sebesar 0,390 dan isolat campuran juga memiliki nilai OD 0,430. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pada hari tersebut, ketiga isolat bakteri mengalami fase logaritmik dimana pada fase tersebut bakteri endofit mengalami peningkatan jumlah sel secara signifikan. Ketiga nilai OD tersebut tergolong rendah dibandingkan dengan isolat rhizobakteri yang diisolasi dari padi oleh Ikhwan (2006) yang mampu menghasilkan nilai OD sebesar 1,75 pada media M63 bebas N.

Bakteri endofit melakukan fiksasi nitrogen ketika fase adaptasi, yaitu hari ke-1 dan hari ke-2. Pada fase ini, bakteri endofit secara aktif melakukan metabolisme terhadap reaktan yang akan menghasilkan metabolit seperti amonium. Selain itu, pada fase ini bakteri endofit juga melakukan pembentukan serta aktivasi terhadap enzim. Salah satu enzim yang dihasilkan ialah enzim nitrogenase yang berperan dalam proses fiksasi nitrogen (Vionita *et al.*, 2013).

Fase logaritmik pada hari ke-3 terjadi peningkatan jumlah sel bakteri secara signifikan. Hal tersebut menunjukkan bahwa amonium yang dihasilkan dari proses fiksasi nitrogen telah dimanfaatkan oleh bakteri endofit sebagai sumber nitrogen dengan mengubahnya menjadi produk seperti asam amino. Asam amino tersebut akan

terlibat dalam metabolisme dan pembelahan sel bakteri endofit, sehingga terjadi peningkatan jumlah sel sampai batas tertentu (Purwoko, 2007). Hasil pengamatan menunjukkan bahwa isolat *Enterobacter cloacae* mampu hidup dengan lebih baik pada media M63 bebas N yang ditunjukkan dengan nilai OD sel yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lainnya. Hal tersebut mengindikasikan bahwa isolat mampu memfiksasi N₂ dari udara dengan baik untuk memenuhi kebutuhan hidupnya terhadap senyawa nitrogen.

Fase stasioner bakteri endofit terjadi sangat singkat, karena beberapa bakteri hanya mampu bertahan pada fase statis dalam beberapa jam dan kemudian mengalami fase kematian. Pada fase ini umumnya bakteri melakukan mekanisme bertahan dengan tidak melakukan aktivitas metabolisme untuk menghambat energi dengan mengurangi proses fiksasi nitrogen yang membutuhkan banyak energi berupa ATP (Purwoko, 2007). Pada fase kematian, sel bakteri mengalami penurunan jumlah secara signifikan karena jumlah nutrisi pada media yang mulai berkurang (Kusnadi *et al.*, 2003). Amonium yang telah dihasilkan umumnya diubah kembali menjadi nitrogen anorganik menjadi sumber nutrisi untuk mempertahankan sel bakteri dari kematian (Purwoko, 2007).

Hasil penelitian Deepa *et al.* (2010), *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah non-rizosferik mampu tumbuh dengan baik pada media pertumbuhan bebas nitrogen. Bhise *et al.* (2017), menjelaskan bahwa *Enterobacter cloacae* mampu menghasilkan ammonium dengan sangat baik pada uji kualitatif. Dhole *et al.* (2016)

menjelaskan bahwa *Enterobacter cloacae* memiliki kapasitas fiksasi nitrogen sebesar 48,99 mg N/g glukosa yang dikonsumsi. Nilai tersebut tergolong tinggi dibandingkan dengan *Klebsiella pneumoniae* yang hanya sebesar 29,97 mg N/g, *Pseudomonas aeruginosa* sebesar 11,55 mg N/g, dan *Klebsiella variicola* sebesar 45,69 mg N/g glukosa yang dikonsumsi.

Enterobacter cloacae mampu menambat N₂ di udara lebih baik dibandingkan dengan isolat lain diduga karena bakteri tersebut memiliki gen *nif* yang berkontribusi dalam proses penambatan nitrogen serta meningkatkan penyerapan nitrogen pada tanaman inang (Ogbo dan Okonkwo, 2012). Gen *nif* merupakan gen yang terlibat dalam aktivasi protein Fe, biosintesis kofaktor besi molybdenum, penyerahan elektron, dan gen pengatur yang dibutuhkan untuk sintesis dan fungsi enzim nitrogenase (Gupta *et al.*, 2015). Selain itu, *Enterobacter cloacae* menghasilkan sejumlah lendir ketika dikultur pada media bebas nitrogen. Hal tersebut bertujuan untuk membatasi konsentrasi O₂ yang dapat merusak aktivitas enzim nitrogenase (Raju *et al.*, 1972).

Isolat campuran dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Bacillus cereus* menunjukkan nilai yang kurang maksimal dibandingkan dengan isolat tunggal. Pada beberapa penelitian menunjukkan keefektifan isolat campuran dalam memfiksasi N₂ dibandingkan dengan isolat tunggal. Hal tersebut diduga karena kedua isolat bakteri endofit memiliki sifat saling menghambat kerja dari bakteri lain, sehingga aktivitas kedua bakteri tersebut tidak dapat berjalan dengan optimal. Menurut Naclerio *et al.*

(1993), *Bacillus cereus* menghasilkan bakteriosin berupa *cerein* yang memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri lain. Deng dan Wang (2016) menjelaskan bahwa nutrisi pada media yang terbatas menyebabkan terjadinya kompetisi antar bakteri. Salah satu bakteri akan menghasilkan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri lainnya sehingga aktivitas metabolismenya menjadi tidak maksimal. Harni *et al.* (2007) menyebutkan bahwa perlakuan bakteri endofit secara kombinasi dapat meningkatkan kerja dari bakteri endofit selama tidak adanya sifat saling menghambat antar isolat bakteri.

Isolat bakteri *Enterobacter cloacae* memiliki potensi dalam memfiksasi N_2 di udara secara *in vitro*. Dengan demikian, ketiga isolat bakteri endofit mempunyai potensi yang dapat dikembangkan sebagai pupuk hayati yang berperan dalam memfiksasi N_2 dan dapat diaplikasikan di tanah. Hal tersebut dikarenakan kandungan nutrisi pada tanah lebih kaya dan lebih lengkap dibandingkan dengan nutrisi yang terdapat pada media M63 yang memiliki nutrisi minimal. Sehingga dimungkinkan pertumbuhan bakteri endofit pada tanah akan lebih baik dibanding pada media M63 (Ikhwan, 2006). Isolat *Enterobacter cloacae* dianggap sebagai isolat yang memiliki kemampuan memfiksasi N_2 lebih baik dibandingkan dengan kedua isolat lainnya dengan alasan yang telah dijelaskan sebelumnya. Oleh karena itu, isolat *Enterobacter cloacae* akan digunakan sebagai perlakuan pada uji *in vivo*.

4.2 Potensi Bakteri Endofit dalam Memproduksi Hormon IAA

4.2.1 Uji Kualitatif

Uji kualitatif dilakukan dengan mengamati perubahan warna supernatan kultur bakteri setelah diberi penambahan reagen salkowski. Hasil positif dari uji kualitatif ialah terjadi perubahan warna menjadi merah muda. Hasil pengamatan uji kualitatif pada ketiga isolat adalah sebagai berikut.

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Uji Kualitatif terhadap Produksi Hormon IAA

No.	Perlakuan	Intensitas Warna	Keterangan
1.	<i>Enterobacter cloacae</i>	+++	Merah Muda Pekat
2.	<i>Bacillus cereus</i>	+++	Merah Muda Pekat
3.	Campuran	+	Merah Muda Pudar

Keterangan : +++ : Merah muda pekat; ++: Merah muda; +; Merah muda pudar

Hasil positif pada uji kualitatif ditandai dengan perubahan warna supernatan kultur bakteri menjadi merah muda. Perubahan warna tersebut dapat terjadi karena adanya interaksi antara IAA dan Fe membentuk senyawa kompleks $[\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IA})_4]$ yang ditunjukkan dengan warna merah muda (Kovacs, 2009).

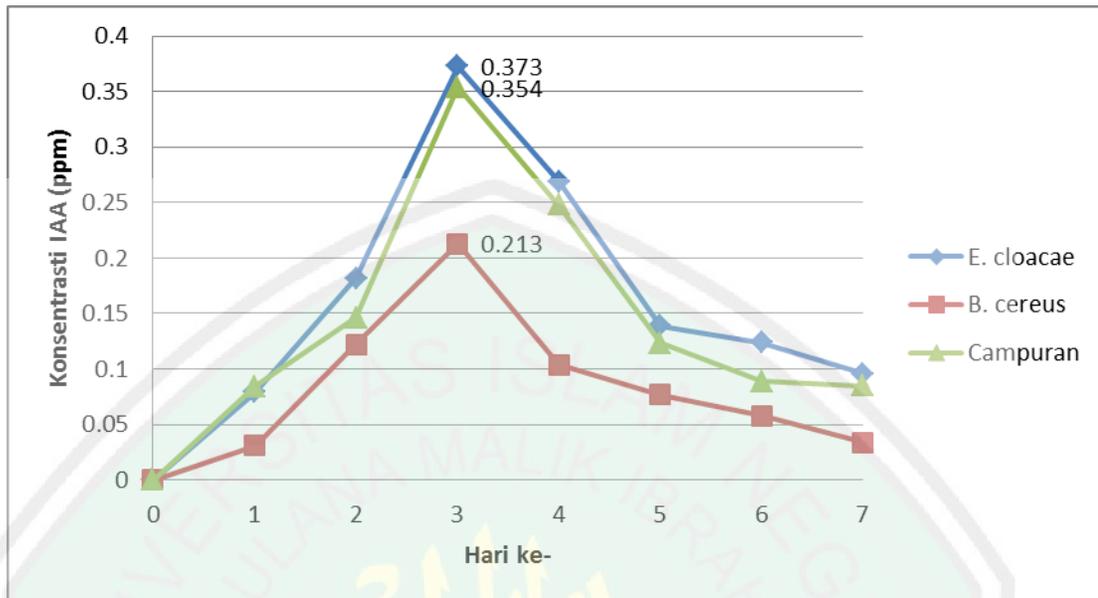
Hasil pengamatan pada ketiga isolat bakteri endofit menunjukkan bahwa supernatant isolat bakteri mengalami perubahan warna ketika diberi penambahan reagen salkowski (Lampiran 1). Isolat bakteri *Enterobacter cloacae* dan isolat campuran mengalami perubahan warna menjadi warna merah muda yang terlihat pekat bila dibandingkan dengan kontrol yang berwarna kuning kecoklatan. Sementara

itu, supernatan dari isolat *Bacillus cereus* mengalami perubahan warna yang kurang nyata bila dibandingkan dengan warna yang dimiliki oleh kontrol.

Perbedaan intensitas warna merah muda dari supernatan diakibatkan dari perbedaan konsentrasi hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit. Semakin pekat warna merah muda yang dihasilkan, maka konsentrasi dari hormon IAA juga semakin tinggi. Begitu pula sebaliknya, jika warna merah muda yang dihasilkan tidak begitu pekat, maka hal tersebut mengindikasikan bahwa konsentrasi hormon IAA yang dihasilkan hanya dalam jumlah yang sedikit (Kovacs, 2009). Hal tersebut karena Fe yang terkandung pada reagen salkowski yang berikatan dengan hormon IAA hanya sedikit sehingga warna merah muda yang ditimbulkan tidak terlalu kuat.

4.2.2 Uji Kuantitatif

Hasil pengamatan potensi bakteri endofit dalam memproduksi hormon IAA secara *in vitro* dengan uji kuantitatif adalah sebagai berikut.



Gambar 4.2 Konsentrasi Hormon IAA yang Dihasilkan oleh Bakteri Endofit

Hasil analisis dari uji kuantitatif menunjukkan bahwa ketiga isolat bakteri endofit menghasilkan konsentrasi hormon IAA yang bervariasi. Pada hari ke-3, ketiga isolat bakteri endofit menghasilkan hormon IAA dengan konsentrasi tertinggi. Isolat *Enterobacter cloacae* menghasilkan konsentrasi tertinggi dibandingkan dengan isolat lain, yaitu sebesar 0,373 ppm, sedangkan pada hari yang sama, isolat *Bacillus cereus* hanya menghasilkan hormon IAA sebesar 0,213 ppm dan isolat campuran sebesar 0,354 ppm. Berdasarkan konsentrasi IAA yang dihasilkan, maka isolat *Enterobacter cloacae* yang dianggap paling potensial dalam menghasilkan IAA. Menurut Tarigan (2013), isolat bakteri dikatakan potensial jika memiliki nilai sekresi hormon IAA yang stabil dan lebih tinggi dibandingkan isolat lain selama masa inkubasi.

Konsentrasi hormon IAA yang tertinggi dihasilkan oleh isolat bakteri endofit pada hari ke-3. Hal itu diduga karena pada hari ke-3, ketiga isolat sudah memasuki

fase stasioner dimana pada fase tersebut kandungan nutrisi pada media mulai berkurang sehingga akan dihasilkan metabolit sekunder berupa hormon IAA dalam jumlah yang tinggi. Hormon IAA disintesis oleh bakteri endofit sebagai metabolit sekunder yang dihasilkan dalam kondisi pertumbuhan bakteri yang kurang optimal atau saat tersedia prekursor asam amino triptofan (Lucyanie, 2009).

Produksi hormon IAA oleh bakteri endofit mulai mengalami penurunan pada hari ke-4. Menurut Ghosh *et al.* (2015), tingkat produksi hormon IAA oleh bakteri menurun pada fase stasioner akhir. Hal tersebut diduga karena bakteri endofit menggunakan nutrisi dalam media tersebut hanya untuk memenuhi pertumbuhannya saja, tidak untuk menghasilkan senyawa metabolit sekunder seperti hormon IAA. Selain itu, penurunan produksi IAA oleh bakteri juga dapat disebabkan karena bakteri tersebut menggunakan hormon IAA yang dihasilkannya untuk bermetabolisme. Lestari *et al.* (2007) menyatakan bahwa semakin lama umur bakteri, hormon IAA yang dihasilkan cenderung mengalami penurunan. Hal ini kemungkinan besar disebabkan oleh turunnya kandungan nutrisi pada media. Hormon IAA yang dihasilkan kemungkinan dikonsumsi kembali untuk pertumbuhan bakteri. Pada bakteri, terdapat fenomena bahwa pola produksi dan konsumsi IAA berjalan seimbang. Menurut Kresnawaty *et al.* (2008), terjadinya penurunan produksi hormon IAA juga disebabkan karena adanya pelepasan enzim pendegradasi IAA seperti peroksidase dan oksidase.

Hasil uji potensi bakteri endofit dalam memproduksi hormon IAA menunjukkan hasil yang bervariasi pada ketiga isolat. Hal tersebut diduga disebabkan karena perbedaan kemampuan kecepatan masing-masing isolat bakteri endofit dalam mensintesis hormon IAA dari triptofan. Selain itu, hormon IAA yang dihasilkan tergolong masih rendah dibandingkan dengan hasil penelitian lain yang sudah dilakukan.

Isolat *Enterobacter cloacae* memiliki kemampuan lebih baik dalam menghasilkan hormon IAA dibandingkan dengan isolat lain diduga karena *Enterobacter cloacae* memiliki kemampuan dalam menambat N₂ di udara yang baik pula. Kemampuan bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA didukung oleh unsur nitrogen sebagai unsur penyusun triptofan yang merupakan prekursor dari hormon IAA (Lakitan, 2008). Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan bakteri dalam menghasilkan hormon IAA didukung oleh kemampuannya dalam menambat N₂, karena ammonium yang dihasilkan akan digunakan untuk menyusun hormon IAA (Vionita *et al.*, 2013).

Penelitian Bhise *et al.* (2017) menunjukkan bahwa *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah yang mengandung garam mampu menghasilkan hormon IAA sebanyak 22,16±1,57 µg/ml setelah 48 jam masa inkubasi. Deepa *et al.* (2010) menambahkan bahwa *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah non-rizosferik mampu menghasilkan hormon IAA sebanyak 104,8±1,3 µg/ml. Singh *et al.* (2017) menjelaskan bahwa *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah rizosferik mampu

menghasilkan hormon IAA sebanyak $3,117 \pm 0,20$ $\mu\text{g/ml}$. Hormon IAA yang dihasilkan oleh *Enterobacter cloacae* pada penelitian kali ini tergolong rendah bila dibandingkan dengan penelitian sebelumnya, yaitu hanya sebesar $0,373$ $\mu\text{g/ml}$. Menurut Akbari *et al.* (2007), kemampuan bakteri dalam menghasilkan hormon IAA berbeda-beda tergantung jenis dan asal bakteri tersebut.

Isolat campuran dari bakteri *Enterobacter cloacae* dan *Bacillus cereus* menghasilkan konsentrasi hormon IAA yang lebih rendah dibandingkan dengan isolat tunggal dari *Enterobacter cloacae*. Hal tersebut diduga karena kedua bakteri memiliki sifat yang saling menghambat aktivitas dari bakteri lain, sehingga aktivitas bakteri dalam merubah triptofan menjadi hormon IAA kurang optimal. Menurut Naclerio *et al.* (1993), *Bacillus cereus* menghasilkan bakteriosin berupa *cerein* yang memiliki sifat antimikroba terhadap bakteri lain. Deng dan Wang (2016) menjelaskan bahwa nutrisi pada media yang terbatas menyebabkan terjadinya kompetisi antar bakteri. Salah satu bakteri akan menghasilkan antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan dari bakteri lainnya sehingga aktivitas metabolismenya menjadi tidak maksimal. Harni *et al.* (2007) menyebutkan bahwa perlakuan bakteri endofit secara kombinasi dapat meningkatkan kerja dari bakteri endofit selama tidak adanya sifat saling menghambat antar isolat bakteri.

4.3 Pengaruh Bakteri Endofit pada Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis

Parameter yang diamati pada penelitian kali ini, antara lain panjang akar, tinggi tanaman, berat kering tajuk, jumlah daun, dan warna daun. Setiap perlakuan dilakukan sebanyak 8 kali ulangan (Lampiran 4). Hasil pengamatan pada parameter panjang akar, tinggi tanaman, jumlah daun dan berat kering tajuk adalah sebagai berikut.

Tabel 4.2 Hasil Pengamatan Panjang Akar, Tinggi Tanaman, Jumlah Daun dan Berat Kering Tajuk Tanaman Jagung Manis 21 HST

No.	Parameter	Hasil Pengukuran		Persentase Pertumbuhan (%)
		<i>Enterobacter cloacae</i>	Kontrol	
1.	Panjang Akar (cm)	23,2*	13,1	77
2.	Tinggi Tanaman (cm)	47,5 *	33	44
3.	Jumlah Daun (helai)	5,75	5,5	4,5
4.	Berat Kering Tajuk (gram)	1,36*	0,71	91

Keterangan: *): nilai signifikansi kurang dari 0,050 (ada pengaruh dari perlakuan yang diberikan terhadap parameter pengamatan)

Hasil analisis sidik ragam ANOVA pada parameter panjang akar, tinggi tanaman, dan berat kering tajuk menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,000 atau kurang dari 0,05 (Lampiran 5). Hal tersebut menunjukkan adanya pengaruh dari perlakuan pemberian bakteri endofit terhadap ketiga parameter yang diamati tersebut. Adanya pengaruh yang diberikan diduga karena karena bakteri endofit mampu menyumbangkan nitrogen hasil aktivitas fiksasi N_2 dan hormon IAA yang diproduksinya untuk digunakan dalam pertumbuhan tanaman jagung manis.

Pengaruh yang diberikan oleh pemberian bakteri endofit *Enterobacter cloacae* pada pertumbuhan tanaman jagung manis menunjukkan bahwa bakteri tersebut tidak bersifat patogen pada tanaman jagung manis, sehingga dapat memberikan efek positif pada tanaman tersebut. Menurut Strunk dan Bymukama (2016), bakteri patogen pada tanaman jagung manis antara lain, *Clavibacter michiganensis* subsp. *nebraskensis*, *Pseudomonas syringae* pv. *syringae*, *Erwinia stewartii* dan *Erwinia chrysanthemi* pv. *zoeae*.

Potensi bakteri endofit yang dapat dimanfaatkan oleh manusia sesuai dengan firman Allah SWT pada QS Al-Jaatsiyah (45) ayat 13 yang berbunyi:

وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ جَمِيعًا مِّنْهُ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَاتٍ لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ - ١٣

Artinya: “Dan Dia Menundukkan apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi untukmu semuanya (sebagai rahmat) dari-Nya. Sungguh, dalam hal yang demikian itu benar-benar terdapat tanda-tanda (kebesaran Allah) bagi orang-orang yang berpikir” (QS. Al-Jaatsiyah(45): 13).

Makna dari lafadz *وَسَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَاوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ* (dan dia menundukkan untukmu apa yang ada di langit dan apa yang ada di bumi semuanya) yaitu berupa binatang-binatang, gunung-gunung, lautan, sungai-sungai dan segala hal yang dapat dimanfaatkan oleh manusia. Artinya, semuanya merupakan karunia, kebaikan, dan anugerah-Nya. Oleh karena itu, lafadz *جَمِيعًا مِّنْهُ* (semuanya dari-Nya) berarti dari sisi-Nya semata, tidak ada sekutu bagi-Nya dalam hal itu (Ghoffar *et al.*, 2004). Sehingga dapat dikatakan bahwa manfaat yang dapat diperoleh dari bakteri endofit merupakan karunia dari Allah dan hendaknya dapat menjadikan manusia lebih bersyukur atas nikmat yang dikarunai oleh-Nya.

Bakteri endofit dengan kemampuan memfiksasi N_2 mampu memperbaiki asupan nutrisi N untuk tanaman serta kemampuannya dalam memproduksi fitohormon dapat merubah morfologi dan fisiologi dari akar sehingga meningkatkan biomassa akar dan dapat lebih banyak dalam mengeksploitasi volume tanah. Akibatnya, serapan hara dapat meningkat sehingga pertumbuhan dan produksi tanaman mengalami peningkatan (Wuriesliyane *et al.*, 2013). Tersedianya nitrogen pada tanaman menyebabkan pembentukan bagian-bagian vegetatif dengan cepat dan fotosintat yang terbentuk akan meningkat, sehingga akan mendukung produksi tanaman (Kresnatita, 2009).

Pertumbuhan tanaman dapat sangat aktif dan cepat pada fase tertentu sehingga pemanfaatan unsur hara menjadi sangat efektif. Pada saat tanaman sedang dalam fase pertumbuhan vegetatif yang aktif, penyerapan unsur hara akan semakin aktif pula. Pada tanaman jagung, penyerapan unsur hara yang optimal adalah pada umur 18 HST (McWilliams *et al.*, 1999). Unsur nitrogen dibutuhkan untuk membentuk senyawa penting seperti klorofil, asam nukleat, dan enzim. Senyawa penting tersebut dibutuhkan dalam proses metabolisme. Sehingga bila proses metabolisme dapat berjalan dengan baik, maka pertumbuhan tanaman menjadi baik. Unsur nitrogen diakumulasikan dalam jaringan-jaringan tanaman pada fase vegetatif, sedangkan pada fase generatif nantinya akan dipindahkan pada biji (Effendi, 1986). Oleh karena itu, keberadaan unsur N menjadi bagian yang sangat penting dalam meningkatkan pertumbuhan tinggi tanaman.

Pertumbuhan tanaman jagung manis juga dipengaruhi oleh hormon pertumbuhan tanaman, salah satunya ialah hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Akar merupakan salah satu organ tanaman yang sensitif terhadap jumlah IAA. Tanaman merespon hormon IAA dengan mekanisme pemanjangan akar utama dan pembentukan akar lateral serta akar adventif. Dewi (2008) menyatakan bahwa konsentrasi IAA yang rendah ($<10^{-5}$ g/l) dapat memacu pemanjangan sel-sel akar. Sementara itu, konsentrasi IAA dalam konsentrasi tinggi dapat menghambat pemanjangan sel akar.

Penelitian Deepa *et al.* (2010) menunjukkan bahwa *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah non-rizosferik mampu menambah panjang akar tanaman buncis sebanyak 51%. Bhise *et al.* (2017) menjelaskan pemberian isolat *Enterobacter cloacae* mampu menambah panjang akar *Vigna radiata* sebesar 17%. Singh *et al.* (2017) menunjukkan bahwa tanaman *Triticum aestivum* yang diberi perlakuan *Enterobacter cloacae* memiliki akar 25,8% lebih panjang dibandingkan tanaman kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolat *Enterobacter cloacae* dapat meningkatkan panjang akar jagung manis sebesar 77%. Hal tersebut menunjukkan bakteri endofit memiliki potensi yang tinggi untuk meningkatkan panjang akar tanaman jagung manis.

Hormon IAA yang dihasilkan oleh bakteri endofit akan dimanfaatkan oleh tanaman dalam proses pertumbuhan tinggi tanaman (Spaepen *et al.*, 2007). Menurut Dewi (2008), hormon IAA dapat berpengaruh dalam peningkatan panjang batang pada konsentrasi tertentu yaitu 0,9 g/l. Apabila konsentrasi IAA melebihi jumlah

tersebut maka IAA akan menghambat pemanjangan sel batang. Hal tersebut diduga karena konsentrasi IAA yang tinggi akan memacu tanaman untuk mensintesis zpt lain yaitu etilen yang memberikan pengaruh berlawanan dengan IAA.

Penelitian Georgieva (2003) menunjukkan sebanyak 39% tanaman mentimun yang diinokulasikan bakteri *Enterobacter cloacae* yang berasal dari tanah rizosferik memiliki tinggi lebih dari 15 cm, sedangkan tanaman kontrol dengan tinggi yang sama hanya sebanyak 13%. Deepa *et al.* (2010) menerangkan bahwa *Enterobacter cloacae* dapat meningkatkan tinggi tanaman *Vigna unguiculata* sebanyak 50%. Bishe *et al.* (2017) menjelaskan bahwa *Enterobacter cloacae* mampu meningkatkan tinggi tanaman *Vigna radiata* sebanyak 18%. Hasil penelitian menunjukkan tanaman jagung manis yang diinokulasikan *Enterobacter cloacae* memiliki tanaman 44% lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bakteri endofit memiliki potensi yang tinggi untuk meningkatkan tinggi tanaman jagung manis.

Tanaman jagung manis yang diberikan penambahan pupuk anorganik mengalami peningkatan tinggi tanaman sebanyak 48% (Pasta *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, tanaman jagung manis yang diberikan perlakuan bakteri endofit *Enterobacter cloacae* mengalami peningkatan tinggi tanaman sebanyak 44%. Hal tersebut menunjukkan adanya potensi bakteri endofit *Enterobacter cloacae* sebagai pupuk dalam meningkatkan tinggi tanaman jagung manis.

Berat kering tajuk tanaman mencerminkan hasil dari akumulasi senyawa organik yang berhasil disintesis oleh tanaman ke organ-organ lainnya sehingga berat kering

tajuk tanaman juga ikut meningkat seiring dengan perkembangan organ-organ tanaman tersebut. Peningkatan berat kering tajuk tanaman salah satunya diduga karena tanaman memperoleh hara yang cukup dan maksimal sesuai dengan hara yang dibutuhkan oleh tanaman tersebut (Putra *et al.*, 2016). Salah satu unsur hara yang paling dibutuhkan oleh tanaman untuk pertumbuhannya ialah nitrogen. Kadar rata-rata nitrogen dalam jaringan tanaman adalah 2%-4% berat kering (Fanindi *et al.*, 2009).

Hormon IAA dapat mempengaruhi metabolisme RNA yang berperan dalam proses sintesis protein melalui proses transkripsi RNA. Kenaikan sintesis protein dapat digunakan untuk pertumbuhan tanaman sehingga dapat meningkatkan berat kering dari tanaman tersebut (Wijayati *et al.*, 2005). Rata-rata berat kering tajuk pada tanaman dengan pemberian bakteri endofit lebih tinggi dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut dipengaruhi oleh pertumbuhan daun dan batang dari tanaman tersebut. Tanaman yang proporsi tajuknya lebih tinggi dapat mengumpulkan lebih banyak cahaya energi, sedangkan tanaman dengan proporsi akar lebih banyak akan lebih efektif berkompetisi untuk mendapatkan unsur hara dari tanah (Ginting, 2017).

Penelitian Deepa *et al.* (2010) menunjukkan bahwa *Enterobacter cloacae* yang diisolasi dari tanah non-rizosferik mampu meningkatkan berat kering tanaman buncis (*Vigna unguiculata*) sebanyak 58%. Singh *et al.* (2017) menjelaskan bahwa *Enterobacter cloacae* mampu meningkatkan berat segar dan berat kering tanaman *Triticum aestivum* hingga mencapai 22,64% dan 31,65%. Bishe *et al.* (2017)

menunjukkan bahwa tanaman *Vigna radiata* yang diinokulasikan *Enterobacter cloace* mengalami peningkatan berat kering tanaman sebanyak 24%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tanaman jagung manis yang diinokulasikan bakteri endofit *Enterobacter cloacae* memiliki berat kering 91% lebih besar dibandingkan dengan kontrol. Hal tersebut menunjukkan bakteri endofit memiliki potensi yang tinggi untuk meningkatkan berat kering tajuk tanaman jagung manis bila dibandingkan dengan penelitian lain.

Berdasarkan hasil pengamatan, dapat dijelaskan adanya keterkaitan antara panjang akar dengan tinggi tanaman. Akar yang panjang dapat memperluas daerah penyerapan unsur hara dan air dalam tanah. Semakin efektif penyerapan unsur hara maka proses asimilasi berjalan lancar sehingga mendukung perkembangan bagian atas tanaman, seperti batang, daun, dan cabang-cabang (Ngakumalem *et al.*, 2013).

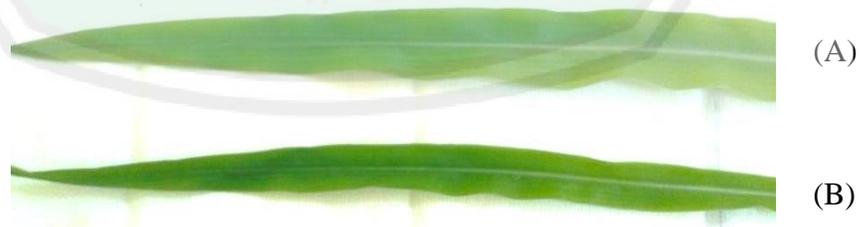
Hasil analisis sidik ragam ANOVA pada parameter jumlah daun menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,344 atau lebih dari 0,05 (Lampiran 5). Hal tersebut menunjukkan tidak adanya pengaruh dari perlakuan pemberian bakteri endofit terhadap parameter jumlah daun. Menurut Goldsworthy dan Fisher (1996), jumlah daun sangat ditentukan oleh faktor genetik. Pada penelitian kali ini terlihat bahwa faktor genetik lebih berpengaruh dibandingkan dengan perlakuan pemberian bakteri endofit.

Menurut McWilliams *et al.*, (1999), pada minggu ke-3 (hari ke-21), tanaman jagung manis memasuki fase V6 dimana jumlah daun yang terbuka dengan sempurna

berjumlah 6 helai. Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian yang menunjukkan jumlah daun berkisar 5-6 helai. Dahlan *et al.* (2013) menambahkan bahwa perbedaan unsur hara dalam tanah tidak begitu berperan dalam pertambahan jumlah daun, karena tanaman dengan fase tertentu dapat meningkatkan jumlah daun secara maksimal yang berkaitan dengan faktor genetik, sehingga menyebabkan jumlah daun yang hampir sama.

Tanaman jagung manis yang diberikan penambahan pupuk anorganik mengalami peningkatan jumlah daun sebanyak 25% (Pasta *et al.*, 2015). Pada penelitian ini, peningkatan jumlah daun hanya sebesar 4,5%. Hal tersebut diduga karena pupuk anorganik menyediakan unsur hara dengan lebih lengkap dan mudah diserap oleh tanaman jagung manis sehingga unsur hara tersebut langsung dapat dimanfaatkan tanaman jagung manis untuk membantu helai daun.

Hasil pengamatan terhadap warna daun tanaman jagung manis menunjukkan bahwa tanaman jagung manis yang diberi perlakuan pemberian isolat *Enterobacter cloacae* memiliki warna daun hijau tua (Gambar 4.3)



Gambar 4.3 (A) Daun Tanaman Jagung Manis dengan Perlakuan Bakteri Endofit *Enterobacter cloacae*; (B) Daun Tanaman Jagung Manis Tanpa Perlakuan (Kontrol).

Warna tersebut tidak memiliki perbedaan yang nyata dengan tanaman jagung manis yang tidak diberi perlakuan. Tingkat kecerahan warna daun dipengaruhi oleh kandungan klorofil daun. Klorofil merupakan pigmen pemberi warna hijau pada tanaman. Warna dari daun berkorelasi positif dengan kandungan nitrogen pada daun. Hal tersebut disebabkan karena nitrogen merupakan bagian dari penyusun klorofil yaitu sebesar 60% (Sitompul dan Guritno, 1995). Pemberian N yang optimal dapat meningkatkan pembentukan klorofil yang menyebabkan warna daun menjadi lebih hijau (Englestad, 1997).

Keberadaan klorofil sangat menentukan proses pertumbuhan tanaman. Senyawa tersebut berperan dalam proses fotosintesis dimana proses tersebut hanya dapat terjadi jika terdapat cahaya dan melalui pigmen hijau klorofil. Fungsi klorofil pada proses fotosintesis ialah menyerap dan mengubah energi cahaya menjadi energi kimia dan menghasilkan karbohidrat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan (Salisbury dan Ross, 1995). Apabila laju fotosintesis dari suatu tanaman mengalami peningkatan, maka akan semakin banyak karbohidrat yang terbentuk (Anggarwulan *et al.* 2008).

Defisiensi unsur nitrogen membatasi pembesaran dan pembelahan sel serta menyebabkan tanaman menjadi kerdil dan mengurangi berat kering tanaman (Gardner, *et al.*, 1991). Gejala kekurangan unsur nitrogen ialah daun menjadi hijau kekuning-kuningan sampai menguning seluruhnya. Kemudian terjadi peristiwa pengeringan daun tersebut mulai dari bagian bawah terus ke bagian atas (Fanindi *et al.*, 2009). Sementara itu, jika pasokan nitrogen terlalu besar, maka akan terjadi

peningkatan ukuran sel dan penambahan ketebalan dinding sel, sehingga menyebabkan daun dan batang tanaman menjadi lebih sukulen dan kurang keras (Marschner, 1986). Pada penelitian kali ini, tidak terlihat adanya tanda-tanda daun berwarna kuning ataupun perubahan batang tanaman jagung manis menjadi sukulen. Sehingga dapat dikatakan bahwa pasokan nitrogen untuk tanaman tidak mengalami kekurangan ataupun kelebihan.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan sebagai berikut:

1. Isolat *Enterobacter cloacae* memiliki potensi yang lebih besar dalam memfiksasi N₂ di udara dibandingkan dengan isolat *Bacillus cereus* dan isolat campuran. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai OD sel isolat *Enterobacter cloacae* yang lebih tinggi dan pertumbuhannya yang lebih stabil dibandingkan isolat *Bacillus cereus* dan isolat campuran.
2. Isolat *Enterobacter cloacae* memiliki potensi dalam menghasilkan hormon IAA yang lebih besar dibandingkan dengan isolat *Bacillus cereus* dan isolat campuran. Pada uji kualitatif, supernatan kultur bakteri menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda pekat. Sementara pada uji kuantitatif, konsentrasi hormon IAA yang dihasilkan oleh isolat *Enterobacter cloacae* lebih tinggi dibandingkan dengan isolat *Bacillus cereus* dan isolat campuran.
3. Isolat *Enterobacter cloacae* memiliki potensi dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman jagung manis. Hal tersebut ditunjukkan oleh hasil analisis sidik ragam yang menunjukkan bahwa pemberian isolat *Enterobacter cloacae* memberikan pengaruh terhadap panjang akar, tinggi tanaman, dan

berat kering tajuk tanaman, sedangkan untuk jumlah daun tanaman tidak menunjukkan adanya pengaruh perlakuan yang diberikan. Hal tersebut dikarenakan pertumbuhan daun lebih dipengaruhi oleh faktor genetik dibandingkan dengan faktor lingkungan. Sementara itu, warna daun dari tanaman jagung manis menunjukkan warna hijau tua segar. Hal tersebut menunjukkan bahwa tanaman jagung mendapatkan pasokan N yang cukup, tidak kekurangan ataupun kelebihan.

5.2 Saran

Saran yang dapat diberikan adalah hendaknya penelitian kali ini dapat dikembangkan dengan mengeksplorasi lebih jauh potensi bakteri endofit rimpang temulawak yang berhubungan dengan pemanfaatannya sebagai pupuk hayati. Misalnya potensi bakteri endofit dalam melarutkan fosfat, menghasilkan hormon pertumbuhan lainnya, atau kemampuannya dalam menghasilkan siderofor.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbari, G.A., S.M. Arab, H.A. Alikhani, L. Allahdadi, dan M.H. Arzanesh. 2007. Isolation and Selection Indigenous *Azospirillum* spp. and the IAA of Superior Strain Effect on Wheat Roots. *World J. Agric. Sci.* 3: 523-529
- Al-Qurthubi, Syaikh Imam. 2009. *Tafsir Al-Qurthubi*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Anggarwulan, Solichatun, dan Widya, M. 2008. Karakter Fisiologi Kimpul (*Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott) pada Variasi Naungan dan Ketersediaan Air. *Biodiversitas*. 9 (4) : 267-268
- Aryantha, INYP., PI, Dian dan PDP, Nurmi. 2004. Potensi Isolat Bakteri Penghasil IAA dalam Peningkatan Pertumbuhan Kecambah Kacang Hijau pada Kondisi Hidroponik. *Mikrobiol Indones.* 9: 43-46
- Aryantha, I.P. 2002. *Development of Sustainable Agricultural System, One Day Discussion on The Minimization of Fertilizer Usage*. Jakarta: Menristek-BPPT
- Ath-thabari, Abu Ja'far Muhammad bin Jarir. 2008. *Tafsir Ath-Thabari*. Jakarta: Pustaka Azzam
- Badan Pusat Statistik. 2013. *Tanaman Pangan*. Jakarta
- Bishe, KK., PK., Bhagwat, PB, Dandge. 2017. *J. Plant Growth Regul.* 36: 215-226
- Bolero L, Perrig D, Msciarelli O, Penna C, Cassan F, Luna V. 2007. Phytohormones Production by Three Strains of *Bradyrhizobium japonicum* and Possible Physiological and Technological Implications. *Appl Microbiol Biotechnol* 74: 874-880
- Brooks, George F., Ernest Jawetz, Joseph L. Melnick, and Edward A. Adelberg. 2010. *Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology*. New York: McGraw Hill Medical.
- Cahyani, Vita Ratri. 2009. Pengaruh Beberapa Metode Sterilisasi Tanah terhadap Status Hara, Populasi Mikrobiota, Potensi Infeksi Mikoriza, dan Pertumbuhan Tanaman. *Jurnal Ilmu Tanah dan Agroklimatologi*. 6(1)
- Compant S, Duffy B, Nowak J, Clement C, Barka EA. 2005. Use of Plant-Growth Promoting Bacteria for Biocontrol of Plant Disease: Principles, Mechanism of

- Action, and Future Prospect. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:4951-4959
- Costacurta, A dan Venderleyden, J. 1995. Synthesis of Phytohormones by Plant Associated Bacteria. *Crit. Riv. Microbial.* 21, 1-18
- Dahlan, Suyuti, Armaini, dan Wardati. 2013. Pertumbuhan dan Serapan Nitrogen Bibit Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) pada Fase *Main-Nursery* di Beberapa Medium Tumbuh dengan Efek Sisa Pupuk Organik. *Jurusan Agroekoteknologi. Fakultas Pertanian. Universitas Riau*
- Damam, M., Kaloori, K., Gaddam, B., dan Kausar, R. 2016. Isolated from the Rhizosphere of Medicinal Plants, 37(24), 130–136.
- Danapriatna, Nana. 2010. Biokimia Penambatan Nitrogen oleh Bakteri Non .Simbiotik. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah.* 1 (2)
- Danapriatna, Nana. 2014. Faktor yang Mempengaruhi Biosintesis IAA oleh *Azospirillum*. *Jurnal Ilmiah Solusi.*1(2). 82-88
- Deepa, C.K., SG., Dastager, A. Pandey. 2010. Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Bacteria from Non-Rizospheric Soil and Their Effect on Cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) Seedling Growth. *World J Microbiol Biotechnol.* 26: 1233-1240
- Dewi, I.R. 2008. *Peranan dan Fungsi Fitohormon Bagi Pertumbuhan tanaman. Makalah Falsafah dan Sains.* Bandung: Universitas Padjadjaran press
- Dhole, A., H. Shelat, R. Vyas, Y. Jhala, M. Bhange. 2016. Endophytic Occupation of Legume Root Nodules by *nifH*-Positive Non-Rhizobial Bacteria, and Their Efficiency in the Groundnut (*Arachis hypogaea*). *Ann Microbiol.* 66: 1397-1407
- Ding, Y., Wang, J., Liu, Y., dan Chen, S. 2005. Isolation and Identification of Nitrogen-Fixing Bacilli from Plant Rhizospheres in Beijing Region. *Journal of Applied Microbiology*, 99(5), 1271–1281
- Duca, D., J. Lorv, CL. Patten, D. Rose, BR. Glick. 2014. Indole-3-Acetic Acid in Plant -Microbe Interactions. *Antonie van Leeuwenhoek 80th Anniversary Issue.* 106: 85-125
- Effendi, S. 1986. *Bercocok Tanam Jagung.* Jakarta: Penerbit Yasaguna
- Elbeltagy, A., Nisioka, K., Suzuki, H., Sato, T., Suzuki, H., Ye, B., Hamada, T.,

- Isawa, T., Mitsui, H dan Minamisawa, K. 2001. Endophytic Colonization and *In Planta* Nitrogen Fixation by a *Herbaspirillum* sp. Isolated from Rice Species. *Appl Environ Microbiol* 67, 5285-5293
- Englestad. 1997. *Teknologi dan Penggunaan Pupuk*. Yogyakarta: UGM Press
- Fanindi, A. Yohaeni S. Sutedi. dan Oyo. 2009. *Produksi Hijauan dan Biji Leguminosa Arachis pintol pada Ebrbagai Dosis Pemupukan*. Bogor: Balai Penelitian Tanah
- Fathonah, Dasiyem. 2008. Pengaruh IAA dan GA₃ terhadap Pertumbuhan dan Kandungan Saponin Tanaman Purwaceng (*Pimpinella alpenia* Molk.). [Tesis]. Universitas Sebelas Maret Surakarta
- Gardner, F.P., R.B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991. *Physiology of Crop Plants*. Iowa: The Iowa State university Press
- Ghoffar, M. Abdul., Abdurrahman Muth'i, Abu Ihsan Al-Atsari. 2004. *Tafsir Ibnu Katsir*. Bogor: Pustaka Imam Asy-Syafi'i
- Georgieva, Olga. 2003. *Enterobacter cloacae* Bacterium as a Growth Regulator in Greenhouse Cucumber (*Cucumis sativus* L). *Curcubit Genetics Cooperative*. 24: 4-6
- Ghosh, P.K., T.K. De, T.K. Maiti. 2015. Production and Metabolism of Indole Acetic Acid in Root Nodules and Symbiont (*Rhizobium undicola*) Isolated from Root Nodule of Aquatic Medicinal Legume *Neptunia oleracea* Lour. *Journal of Botany*.
- Ginting, Adetias Katanakan. 2017. Pengaruh Pemberian Nitrogen dan Fosfor terhadap Pertumbuhan Legum *Calopogonium mucunoides*, *Centrosema pubescens*, dan *Archis pintol*. [Skripsi] Fakultas Peternakan Universitas Jambi
- Glickman, E dan Dessaux, Y. 1995. A Critical Examination of Specificity of the Salowski Reagent for Indolic Compound Produced by Phytopatonic Bacteria. *App Enviro Microbiol*. 61: 793-796
- Goldworthy, P.R. dan N. M. Fisher. 1996. *Fisiologi Tanaman Budidaya Tropik*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Press
- Gordon, SA and Weber, RP. 1951. Colorimetric estimation of Indoleacetic Acid. *Plant Physiol*. 26: 192-195

- Gupta, G., Parihar, S. S., Ahirwar, N. K., Snehi, S. K., dan Singh, V. 2015. Microbial and Biochemical Technology Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal Microbiology and Biochemical Technology*, 7(2), 96–102.
- Gusmaini, Santosa, D. A., dan Widyastuti, R. 2007. Pengaruh Mikroba Endofit Berasal dari Ekosistem Air Hitam terhadap Pertumbuhan Tanaman Padi. *Prosiding Seminar Nasional XIII*, (978-979-26-6881–3).
- Hallmann, J. 2001. Plant Interaction with Endophytic Bacteria. DI dalam: Jeger MJ and Spence NJ, editor. *Biotic Interaction In Plant-Pathogen Associations*. CAB International
- Hamdi, Y.A. 1982. *Application of Nitrogen-Fixing System in Soil Improvement and Management*. FAO Soil Bulletin. Roma: FAO
- Harni, R., Abdul M., Supraman, Mustika. 2007. Potensi Bakteri Endofit Pengendali Nematoda Peluka Akar (*Pratylenchus brachyurus*) pada Nilam. *Hayati Journal of Bioscience*. 14(1): 7-12
- Hastings, A. dan S. Harisson. 1994. Metapopulation Dynamics and Genetics. *Annu Rev. Ecol. Syst.* 25: 157-188
- Hidayati, U., Chaniago, I. A., Munif, A., Siswanto, dan Santosa, A. 2014. Potensi Kultur Campuran Bakteri Endofit sebagai Pemacu Pertumbuhan Bibit Tanaman Karet. *Jurnal Penelitian Karet*, 32(2), 129–138
- Hormaeche, E., and Edwards, P.R. 1960. *A Proposed Genus Enterobacter*. Int. Bull. Bacteriol. Nomen. Taxon
- Humann, L., M. Wildung., CH. Cheng, T. Lee, JE. Stewart, JC. Drew, EW. Triplet, D. Main, BK. Scroeder. 2011. Complete Genome of the Onion Pathogen *Enterobacter cloacae* EcWSU1. *Standards in Genomics Sciences*. 5: 279-286
- Ikhwan, Ali. 2006. Uji Potensi Rhizobakteri Perombak Pestisida DDT sebagai Pupuk Hayati (*Biofertilizer*). *GAMMA*. 11(1)
- Imawati, Rohana. 2015. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Endofit dari Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza*) sebagai Penghasil Senyawa Antibakteri terhadap Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus epidermidis*. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang

- Isnaini, M. 2006. *Pertanian Organik*. Cetakan Pertama. Yogyakarta: Penerbit Kasi Wacana
- Jenson I dan Moir CJ. 2003. *Bacillus cereus* and other *Bacillus* species. Ch 14 In: Hocking AD (ed) *Foodborne Microorganisms of Public Health Significance*. 6th ed, Australian Institute of Food Science and Technology (NSW Branch), Sydney, p. 445–478
- Joko, T., D. Istiqomah, U. Windari, P.A. Hardini. 2015. Pengaruh PGPR terhadap Pertumbuhan Plantlet Jagung dan Antagonismenya terhadap Jamur Terbawa Benih secara *In Vitro*. *Prosiding Seminar Nasional Hasil Penelitian*.
- Junior, A. F. C., Oliviera, A. G. de, Oliviera, L. A. de, Santos, G. R. dos, Chagas, L. F. ., Silva, A. L. L. sa, dan Costa, J. da L. 2015. Production of Indole-3-Acetic Acid by *Bacillus* Isolated from Different Soils. *Bulgarian Journal of Agricultural Science*, 21(2), 282–287
- Kannahi, M., dan Ramya, R. 2015. Effect of Biofertilizer, Vermicompost, Biocompost and Chemical Fertilizer on Different Morphological and Phytochemical Parameters of *Lycopersicum esculentum* L. *Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(9), 1460–1469.
- Kartasapoetra. 1987. *Teknologi Konservasi Tanah dan Air*. Jakarta: RIneka Cipta
- Khairani, Gustin. 2009. Isolasi dan Uji Kemampuan Bakteri Endofit Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Akar Tanaman Jagung (*Zea mays* L.). [Skripsi]. Universitas Sumatera Utara
- Koswara, J. 1986. *Budidaya Jagung*. Bogor: Bahan Penataran
- Kovacs, K. 2009. Application of Mossbauer Spectroscopy in Plant Physiology [Ph.D. Dissertation]. ELTE Chemistry Doctoral School. ELTE Institute of Chemistry, Budapest
- Kresnatita, Susi, Koesriharti dan Mudji Santoso. 2009. Aplikasi Pupuk Organik dan Nitrogen pada Jagung Manis. *Jurnal Agritek*
- Kresnawaty, I, S. Andanawarih, Suharyanto dan Tri-Panji. 2008. Optimisasi dan Pemurnian IAA yang Dihasilkan *Rhizobium* sp. dalam Medium Lateks dengan Suplementasi Triptofan dari Pupuk Kandang. *Menara Perkebunan*. 76(2):74-82
- Kusmiyati, F. 1988. *Pengaruh Suhu dan Lama Penyimpanan serta Jumlah Kelobot*

- terhadap Kualitas pada jagung Manis (Zea mays saccharata Sturt).* Karya Ilmiah Jurusan Budidaya Pertanian Fakultas Pertanian IPB, Bogor. 66 hal.
- Kusnadi, Peristiwa, Syulasma A, Purwaningsih W, Rochintaniawati D. 2003. *Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Indonesia Press
- Lakitan, Benyamin. 2008. *Dasar-Dasar Fisiologi Tumbuhan*. Jakarta: PT. Grafindo Persada
- Lestari, P., N.S Dewi Dan I. Eny. 2007. Pengaruh Hormon Asam Indol Asetat yang Dihasilkan oleh *Azospirillum* sp. terhadap Perkembangan Akar Padi. *J. AgroBiogen*. 3: 66-72
- Lucyanie, D. 2009. Pengaruh Penambahan Bahan Organik yang Mengandung Triptofa (TRP) terhadap Produksi Asam Indol Asetat (AIA) oleh *Azospirillum* spp. Strain Lokal. [Skripsi]. Bandung: ITB
- Madigan M and Martinko J (editors). 2005. *Brock Biology of Microorganisms (11th ed.)*. Prentice Hall.
- Maharani, B. R., Surtiningsih, T., dan Utami, E. S. W. 2012. Pengaruh Pemberian Pupuk Hayati dan Media Tanam terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman. *Journal Universitas Airlangga*, XXXIII(2), 81–87.
- Mahboobeh, Z., Morteza, A. S., Mryam, T., dan Reza, S. A. 2014. Effects of Organic and Chemical Fertilizers on Quantitative and Qualitative Characteristics of Peppermint (*Mentha piperita* L.). *International Journal of Agriculture and Crop Sciences*, 7(5), 237–244
- Mangel K dan Kirby EA. 1987. *Principles of Plant Nutrition*. 4th Edition. Switzerland: International Potash Institute.
- Marpaung, A. E. 2014. Pemanfaatan Pupuk Organik Padat dan Pupuk Organik Cair dengan Pengurangan Pupuk Anorganik terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung (*Zea mays* L). *Jurnal Saintech*, 6(4), 8–15.
- Marschner, H. 1986. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. London: Academic Press Harcourt Brace Jovanovich Publisher
- Mayadewi, Ni Nyoman Ari. 2007. Pengaruh Jenis Pupuk Kandang dan Jarak Tanam terhadap Gulma dan Hasil Jagung Manis. *Agrotop*. 26 (4)

- McWilliams, D.A., D.R. Bergland dan G.J. Endres. 1999. *Corn Growth Management Quick Guide*. North Dakota State University and University of Minnesota
- Mishra, P. 2014. Rejuvenation of Biofertilizer for Sustainable Agriculture and Economic Development. *Consilience: The Journal of Sustainable Development*, 11, 41–61.
- Mohite, B. 2013. Isolation and Characterization of Indole Acetic Acid (IAA) Producing Bacteria from Rhizospheric Soil and Its Effect on Plant Growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638–649.
- Mols M, Pier I, Zwietering MH, Abee Tj .2009. The Impact of Oxygen Availability on Stress Survival and Radical Formation of *Bacillus cereus*. *International Journal of Food Microbiology* 135(3):303–311
- Muangthong, A., Youpens, S., dan Rerkasem, B. 2015. Isolation and Characterisation of Endophytic Nitrogen Fixing Bacteria in Sugarcane. *Tropical Life Sciences Research*, 26(1), 41–51.
- Mursito, D. dan Kawiji. 2002. Pengaruh Kerapatan Tanam dan Kedalaman Olah Tanah Terhadap Hasil Umbi. *Jurnal Agrosains*. 4(1): 13-17
- Murthi, R. S., Lisnawita, dan Oemry, S. 2015. Potensi Bakteri Endofit dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman Tembakau yang Terinfeksi Nematoda Puru Akar (*Meloidogyne* spp.). *Jurnal Agroekoteknologi*, 4(1), 1881–1889.
- Nacleiro, G., E. Ricca, M. Sacco, MD. Felice. 1993. Antimicrobial Activity of a Newly Identified Bacteriocin of *Bacillus cereus*. *Applied and Environmental Microbiology*. 59 (12)
- Ngakumalem S., Rasdanelwati dan A. Eviza. 2013. Pengaruh Berbagai Jenis Zat Pengatur Tumbuh Auksin dan Bahan Tanam Setek Pucuk terhadap Pertumbuhan dan Produksi Cabai Merah Hibrida. *jurnal Penelitian Politeknik Petanian Negeri Payakumbuh*. 12(1)
- Ngoma, L., Mogatlanyane, K., dan Babalola, O. O. 2014. Screening of Endophytic Bacteria towards the Development of Cottage Industry : An in Vitro Study, 47(1), 45–63.
- Normanly, J., JP. Slovin, JD. Cohen. 1995. Rethinking Auxin Biosynthesis and Metabolism. *Plant Pysiol*. 107: 323-329

- Nuria, Maulita Cut. 2010. Antibacterial Activities from Jangkang (*Homalocladium platycladum* (F. Muell) Bailey) Leaves. *Mediagro*. 6(2), 9-15
- Ogbo, Frank dan Julius Okonkwo. 2012. Some Characteristics of A Plant Growth Promoting *Enterobacter* sp. Isolated from the Roots of Maize. *Advances in Microbiology*. 2. 368-374
- Pamungkas, F.T., S. Darmanti dan B. Raharjo. 2009. Pengaruh Konsentrasi dan Lama Perendaman dalam Supernatan Kultur *Bacillus* sp.2 DUCC-BR-KL.3 terhadap Pertumbuhan Stek Horizontal Batang Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). *Jurnal Sains dan Matematika*. 17(3): 131-140
- Pasta, I., A. Ette, HN. Barus. 2015. Tanggap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.). *e-J. Agrotekbis*. 3(2): 168-177
- Patten, C.L. dan Glick, B.R. 2002. Role of Pseudomonas Putida Indo Lactic Acid in Development of the Host Plant Root System. *App. Environ. Microbeal*. 68, 3795-3801
- Permatasari, A. D., dan Nurhidayati, T. 2014. Pengaruh Inokulan Bakteri Penambat Nitrogen, Pertumbuhan Tanaman Cabai Rawit. *Jurnal Sains dan Seni POMITS*, 3(2).
- Purwono dan R. Hartono. 2005. *Bertanam Jagung Unggul*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Purwoko, T. 2007. *Fisiologi Mikroba*. Jakarta: PT. Bumi Aksara
- Putra, E., A. Sudirman, dan W. Indrawati. 2016. Pengaruh Pupuk Organik pada Pertumbuhan Vegetatif Tanaman Tebu (*Saccharum officinarum* L.) Varietas GMP 2 dan GMP 3. *Jurnal Agro Industri Perkebunan*. 4(2)
- Rajkowski KT, Bennett RW. 2003. *Bacillus cereus*. Ch 3 In: Miliotis MD, Bier JW (eds) International Handbook of Foodborne Pathogens. Marcel Dekker, New York, p. 27–39
- Raju, P.N., H.J. Evans, R.J. Seidler. 1972. An Asymbiotic Nitrogen-Fixing Bacterium from the Root Environment of Corn. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 69
- Regli, Enne Davin dan Jean-Marie Pages. 2015. *Enterobacter aerogenes* and *Enterobacter cloacae*; Versatile Bacterial Pathogens Confronting Antibiotic Treatment. *Frontiers in Microbiology*. 6: 239

- Rosenblueth, M dan Martinez-Romero, E. 2006. Bacterial Endophytes and Their Interactions with Hosts. *Mol. Plant. Microbes. Interact.* 19 (8). 827-837
- Rubatzky, V. E. dan M. Yamaguchi. 1998. *Sayuran Dunia: Prinsip, Produksi dan Gizi*, Jilid 1. Bandung: Penerbit ITB
- Rukmana, Rahmat. 1997. *Usaha Tani Jagung*. Yogyakarta: Kanisius
- Ruriani, Eka dan Nurhayati. 2010. Investigasi *Bacillus cereus* dan *Salmonella* pada Nasi Goreng Pedagang Kaki Lima di Sekitar Kampus Universitas Jember. *Agrotek.* 4(1): 68-75
- Salisbury, F.B. dan C.W. Ross. 1995. *Fisiologi Tumbuhan*. Jilid I. Bandung: ITB
- Santner A, Calderon-Villalobos LIA, Estelle M. 2009. Plant Hormones are Versatile Chemical Regulators of Plant Growth. *Nat Chem Biol.* 5(5):301-307. doi: 10.1038/nchembio.165.
- Saylendra, A., dan Firnia, D. 2013. *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Asal Endofit Akar Jagung (*Zea Mays* L.) yang Berpotensi Sebagai Pemacu Pertumbuhan Tanaman. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan*, 2(1), 19–27.
- Sentana, S. 2010. Pupuk Organik , Peluang dan Kendalanya. *Prosiding Seminar Nasional Teknik Kimia “Kejuangan,”* (ISSN 1693-4393), 2005–2008.
- Septian, NAW., N. Aini, N. Herlina. 2015. Pengaruh Pemberian Pupuk Organik terhadap Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.) pada Tumpang Sari dengan Tanaman Kangkung (*Ipomoea reptans*). *Jurnal Produksi Tanaman.* 3(2): 141-148
- Setiawan, K. 1993. Pertumbuhan, Produksi, dan Kadar Sukrosa Tiga Varietas Jagung Manis Akibat Pemberian Berbagai Dosis Urea. *Jurnal Hortikultura.* 3(12)
- Shihab, Quraish M. 2003. *Tafsir Al-Misbah*. Pesan, Kesan dan Keserasian Al-Qur'an. Jakarta: Penerbit Lentera Hati
- Singh, RP., P. Jha, PN. Jha. 2017. Bio-Inoculation of Plant Growth-Promoting Rizobacterium *Enterobacter cloacae* ZNP-3 Increased Resistance Against Salt and Temperature Stresses in Wheat Plant (*Triticum aestivum* L.). *J Plant Growth Regul.* 36; 783-798
- Sirajuddin, M. 2010. Komponen Hasil dan Kadar Gula Jagung Manis (*Zea mays*

- Saccharata) terhadap Pemberian Nitrogen dan Zat Tumbuh Hidrasil. *Penelitian Mandiri*. Fakultas Pertanian. UNTAD. Palu
- Sitompul, S.M. dan B. Guritno. 1995. *Analisis Pertumbuhan Tanaman*. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada Press.
- Spaepen S, Vanderleyden J, Remans R. 2007. Indole-3-Acetic Acid in Microbial and Microorganism-Plant Signaling. *FEMS Microbiol Rev.* (2007):1–24. doi: 10.1111/j.1574-6976.2007.00072.x
- Strunk, Connie dan Emmanuel Byamakuma. 2016. *iGrow Corn Best Management Practice*. South Dakota
- Subandi. 2010. *Mikrobiologi Pengembangan, Kajian dan Pengamatan Perspektif Islam*. Bandung: Remaja Rosdakrya
- Subekti, A.N. 2010. Morfologi Tanaman dan Fase Pertumbuhan Jagung. *Teknik Produksi dan Pengembangan Tanaman Jagung*, 20-21
- Suprpto, H.S. 1990. *Bertanam Kedelai*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Suriaman, Edi. 2010. Potensi Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Kentang (*Solanum tuberosum*) dalam Memfiksasi N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) secara In Vitro. [Skripsi]. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Susilowati, D. N., Saraswati, R., Elsanti, dan Yuniarti, E. 2003. Isolasi dan Seleksi Mikroba Diazotrof Endofitik dan Penghasil Zat Pemacu Tumbuh pada Tanaman Padi dan Jagung. *Seminar Hasil Penelitian Rintisan Dan Bioteknologi Tanaman*, 128–143.
- Sutedjo, M.M. 1994. *Pupuk dan Cara Pemupukan*. Jakarta: PT. Rineka Cipta
- Syukur M. dan Aziz R. 2013. *Jagung Manis*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Taiz, L and E. Zeiger. 2004. *Plant Physiology*. 3rd ed. Sinauer Associates.
- Tarigan, Ratna Sari, It Jamilah dan Elismani. 2013. Seleksi Bakteri Penambat Nitrogen dan Penghasil Hormon IAA (*Indole Acetic Acid*) dari Rizosfer Tanah Perkebunan Kedelai (*Glycine max* L.). *Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara*

- Thakuria D, NC Talukdar, C Goswaami, S. Harzika dan RC Boro. 2004. Characterization and Screening of Bacteria from Rhizosphere of Rice Grown in Acidic Soil of Assam. *Current Sci.* 86: 978-985
- Thompson, Homer C. dan Kelly William. 1957. *Vegetable Crops*. New York: McGraw Hill Book Company
- Todar, Kenneth. 2012. *Todar's Online Textbook of Bacteriology*. Diakses dari: <http://textbookofbacteriology.net/B.cereus.html> pada 9 november 2017
- Tsavkelova EA, Klimova SY, Cherdyntseva TA, Netrusov AI. 2006. Microbial Producers of Plant Growth Stimulators and Their Practical Use: A Review. *Appl Biochem Microbiol.* 42(2):117–126.
- Vilain S, Luo Y, Hildreth M, Brözel V. 2006. Analysis of the Life Cycle of the Soil Saprophyte *Bacillus cereus* in Liquid Soil Extract and in Soil. *Applied and Environmental Microbiology* 72:4970–4977
- Vionita, Y., Rahayu, Y. S., dan Lisdiana, L. 2013. Potensi Isolat Bakteri Endofit dari Akar Tanaman Ubi Jalar (*Ipomoea batatas*) dalam Penambatan Nitrogen. *LenteraBio*, 4(2), 124–130.
- Widawati, S. 2015. Isolasi dan Aktivitas *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (Rhizobium, Azospirillum, Azotobacter, Pseudomonas) dari Tanah Perkebunan Karet, Lampung. *Berita Biologi*, 12(1), 77–88.
- Widawati, S., Suliasih, dan Saefudin. 2015. Isolasi dan uji efektivitas Plant Growth Promoting Rhizobacteria di lahan marginal pada pertumbuhan tanaman kedelai (*Glycine max* L . Merr .) var . Wilis. *Prosi Sem Nas Biodiv Masy Indon*, 1(1), 59–65.
- Wijayati, Arta, Solichatun, dan Sugiyarto. 2005. Pengaruh Asam Indol Asetat terhadap Pertumbuhan, Jumlah dan Diameter Sel Sekretori Rimpang Tanaman Kunyit (*Curcuma domestica* Val). *Biofarmasi*. 3(1): 16-21
- Wijnands LM, Dufrenne JB, Zwietering MH, van Leusden FM. 2006. Spores from Mesophilic *Bacillus cereus* Strains Germinate Better and Grow Faster in Simulated Gastrointestinal Conditions than Spores from Psychrotrophic Strains. *International Journal of Food Microbiology* 112(2):120–128
- Wuriesliyane, N. Gofar, A. Madjid, H. Widjajanti, N.L.Putu. 2013. Petumbuhan dan Hasil Padi pada Inseptisol Asal Rawa Lebak yang Diinokulasi Berbagai

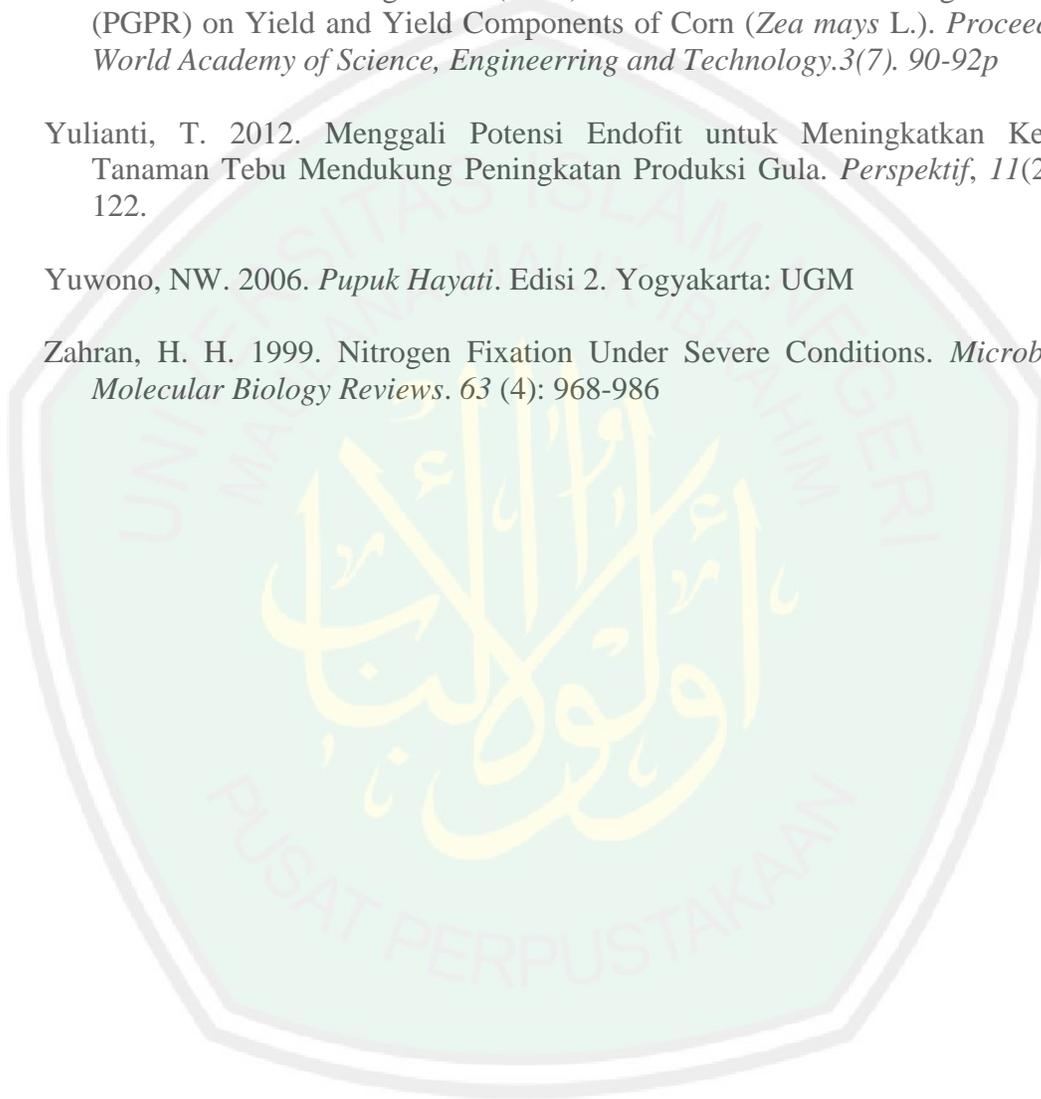
Konsorsium Bakteri Penyumbang Unsur Hara. *Jurnal Lahan Suboptimal*. 2(1): 18-27

Yazdani, M.A. Bahmanyar, H. Pirdashti dan M.A. Esmaili. 2009. Effect of Phosphate Solubilization Microorganisms (PSM) and Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Yield and Yield Components of Corn (*Zea mays* L.). *Proceedings of World Academy of Science, Engineering and Technology*.3(7). 90-92p

Yulianti, T. 2012. Menggali Potensi Endofit untuk Meningkatkan Kesehatan Tanaman Tebu Mendukung Peningkatan Produksi Gula. *Perspektif*, 11(2), 112–122.

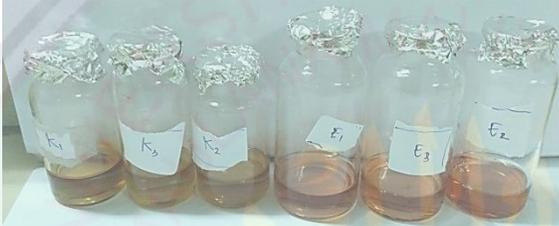
Yuwono, NW. 2006. *Pupuk Hayati*. Edisi 2. Yogyakarta: UGM

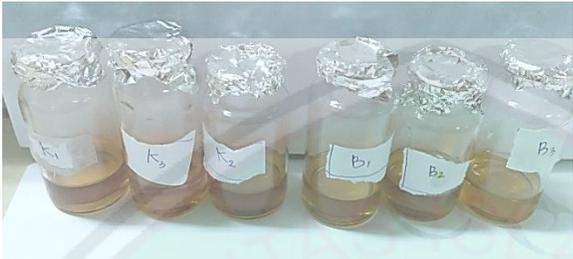
Zahran, H. H. 1999. Nitrogen Fixation Under Severe Conditions. *Microbial and Molecular Biology Reviews*. 63 (4): 968-986



LAMPIRAN

Lampiran 1. Gambar Uji Potensi Bakteri Endofit dalam Memproduksi Hormon IAA secara Kualitatif

Gambar	Keterangan
<p data-bbox="313 663 643 699">1. <i>Enterobacter cloacae</i></p>  <p data-bbox="423 968 873 1003">(1) (2) (3) (4) (5) (6)</p>	<p data-bbox="980 663 1398 919">(1), (2), (3): Media kontrol tanpa perlakuan bakteri endofit tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditetesi reagen salkowski</p> <p data-bbox="980 940 1398 1354">(4), (5), (6): Media perlakuan bakteri endofit <i>Enterobacter cloacae</i> menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda setelah ditetesi reagen salkowski (positif). Reaksi positif menunjukkan keberadaan hormon IAA.</p>

<p>2. <i>Bacillus cereus</i></p>  <p>(1) (2) (3) (4) (5) (6)</p>	<p>(1), (2), (3): Media kontrol tanpa perlakuan bakteri endofit tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditetesi reagen salkowski</p> <p>(4), (5), (6): Media perlakuan bakteri endofit <i>Bacillus cereus</i> tidak menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda setelah ditetesi reagen salkowski.</p>
<p>3. Campuran</p>  <p>(1) (2) (3) (4) (5) (6)</p>	<p>(1), (2), (3): Media kontrol tanpa perlakuan bakteri endofit tidak menunjukkan perubahan warna setelah ditetesi reagen salkowski</p> <p>(4), (5), (6): Media perlakuan bakteri endofit campuran <i>Enterobacter cloacae</i> dan <i>Bacillus cereus</i> menunjukkan perubahan warna menjadi merah muda setelah ditetesi reagen salkowski (positif). Reaksi positif menunjukkan keberadaan hormon IAA.</p>

Lampiran 2. Data Nilai Absorbansi Uji Potensi Fiksasi N₂

No	Isolat	Ulangan ke-	Hari ke-						
			1	2	3	4	5	6	7
1.	<i>E. cloacae</i>	1	0,024	0,088	0,50	0,297	0,120	0,041	0,007
		2	0,047	0,047	0,54	0,334	0,122	0,023	0,028
		3	0,052	0,067	0,497	0,397	0,161	0,062	0,021
		Jumlah	0,123	0,202	1,537	1,028	0,403	0,126	0,056
		Rata-Rata	0,041	0,067	0,512	0,343	0,134	0,042	0,019
2.	<i>B. cereus</i>	1	0,042	0,062	0,357	0,267	0,083	0,019	0,019
		2	0,044	0,081	0,394	0,297	0,114	0,020	0,011
		3	0,027	0,07	0,385	0,24	0,080	0,032	0,007
		Jumlah	0,113	0,213	1,136	0,804	0,277	0,071	0,037
		Rata-Rata	0,037	0,071	0,390	0,268	0,091	0,024	0,012
3.	EC+BC	1	0,055	0,046	0,422	0,324	0,026	0,017	0,015
		2	0,047	0,040	0,493	0,291	0,066	0,006	0,007
		3	0,05	0,149	0,375	0,279	0,050	0,029	0,002
		Jumlah	0,152	0,235	1,29	0,894	0,142	0,052	0,024
		Rata-Rata	0,051	0,078	0,430	0,298	0,047	0,17	0,008

Lampiran 3. Data Nilai Absorbansi Uji Potensi Penghasil Hormon IAA

No	Isolat	Ulangan ke-	Hari ke-						
			1	2	3	4	5	6	7
1.	<i>E. cloacae</i>	1	0,112	0,359	0,792	0,536	0,438	0,230	0,156
		2	0,128	0,351	0,773	0,524	0,165	0,171	0,182
		3	0,120	0,332	0,736	0,358	0,154	0,256	0,133
		Jumlah	0,36	1,042	2,301	1,418	0,757	0,657	0,471
		Rata-Rata	0,12	0,347	0,767	0,539	0,252	0,219	0,157
2.	<i>B. cereus</i>	1	0,010	0,243	0,396	0,183	0,107	0,061	0,021
		2	0,013	0,201	0,445	0,183	0,102	0,083	0,022
		3	0,021	0,198	0,408	0,160	0,136	0,075	0,019
		Jumlah	0,044	0,345	1,249	0,526	0,345	0,219	0,062
		Rata-Rata	0,015	0,214	0,416	0,175	0,115	0,073	0,021
3.	Campuran	1	0,126	0,301	0,858	0,496	0,208	0,139	0,125
		2	0,114	0,255	0,612	0,500	0,187	0,131	0,140
		3	0,156	0,246	0,704	0,510	0,251	0,154	0,137
		Jumlah	0,396	0,802	2,174	1,497	0,646	0,424	0,402
		Rata-Rata	0,132	0,267	0,725	0,493	0,215	0,141	0,134

Substitusi nilai absorbansi pada persamaan kurva standar IAA

Persamaan: $y = 0,54x + 0,025$

No.	Isolat	Konsentrasi Hari ke- (ppm)						
		1	2	3	4	5	6	7
1.	<i>Enterobacter cloacae</i>	0,079	0,182	0,373	0,269	0,139	0,124	0,096
2.	<i>Bacillus cereus</i>	0,031	0,122	0,213	0,104	0,077	0,058	0,034
3.	EC+BC	0,084	0,146	0,354	0,248	0,123	0,089	0,085

Lampiran 4. Data Pengamatan Uji Potensi Bakteri Endofit Secara *In Vivo*

1. Panjang Akar

Perlakuan	Ulangan ke-								Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<i>Enterobacter cloacae</i>	35	23,5	23	22	21,5	20,3	20,3	20,3	185,9	23,2
Kontrol	10	17	10,5	9,5	14	16,5	13,5	14	105	13,1

2. Tinggi Tanaman

Perlakuan	Ulangan ke-								Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<i>Enterobacter cloacae</i>	46	50,8	50,5	44,1	49,6	50,5	44	44,5	380	47,5
Kontrol	31,1	28,5	34,5	33,5	35,5	36	34,2	31	264,3	33

3. Jumlah Daun

Perlakuan	Ulangan ke-								Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	6	6	6	5	6	6	6	46	5,75
Kontrol	5	6	6	6	5	6	6	5	44	5,5

4. Berat Kering Tajuk Tanaman

Perlakuan	Ulangan ke-								Jumlah	Rerata
	1	2	3	4	5	6	7	8		
<i>Enterobacter cloacae</i>	1,37	1,11	1,19	1,08	1,24	1,65	1,37	1,88	10,89	1,36
Kontrol	0,64	0,61	0,56	0,68	0,52	1,17	0,81	0,72	5,71	0,71

Lampiran 5. Hasil Analisis Sidik Ragam (ANOVA)

1. Panjang Akar

ANOVA

PanjangAkar					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	409.051	1	409.051	25.251	.000
Within Groups	226.794	14	16.200		
Total	635.844	15			

Keterangan: Nilai signifikan 0,000 (kurang dari 0,05) menunjukkan perlakuan bakteri endofit yang diberikan memberikan pengaruh terhadap panjang akar tanaman jagung manis dengan taraf kepercayaan 95%.

2. Tinggi Tanaman

ANOVA

TinggiTanaman					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	836.656	1	836.656	101.502	.000
Within Groups	115.399	14	8.243		
Total	952.054	15			

Keterangan: Nilai signifikan 0,000 (kurang dari 0,05) menunjukkan perlakuan bakteri endofit yang diberikan memberikan pengaruh terhadap tinggi tanaman jagung manis dengan taraf kepercayaan 95%.

3. Berat Kering Tajuk

ANOVA

BeratKering

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.456	1	.456	5.095	.041
Within Groups	1.252	14	.089		
Total	1.708	15			

Keterangan: Nilai signifikan 0,041 (kurang dari 0,05) menunjukkan perlakuan bakteri endofit yang diberikan memberikan pengaruh terhadap berat kering tajuk tanaman jagung manis dengan taraf kepercayaan 95%.

4. Jumlah Daun

ANOVA

JumlahDaun

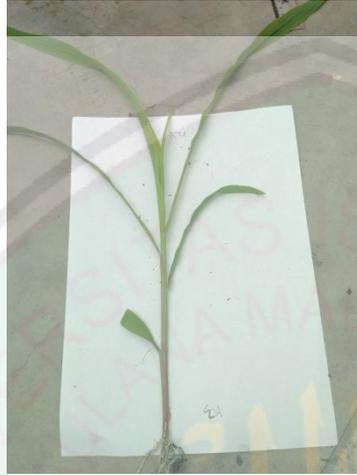
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.250	1	.250	1.000	.334
Within Groups	3.500	14	.250		
Total	3.750	15			

Keterangan: Nilai signifikan 0,334 (lebih dari 0,05) menunjukkan perlakuan bakteri endofit yang diberikan tidak memberikan pengaruh terhadap jumlah daun tanaman jagung manis dengan taraf kepercayaan 95%.

Lampiran 6. Gambar Morfologi Tanaman Jagung Manis 21 HST

Gambar	Keterangan
<p>1. Tinggi Tanaman</p>  <p style="text-align: center;">(A) (B)</p>	<p>(A): Tanaman jagung manis kontrol</p> <p>(B): Tanaman jagung manis yang diinokulasi <i>Enterobacter cloacae</i></p>
<p>2. Panjang Akar</p>  <p style="text-align: center;">(A) (B)</p>	<p>(A): Tanaman jagung manis kontrol</p> <p>(B): Tanaman jagung manis yang diinokulasi <i>Enterobacter cloacae</i></p>

3. Jumlah Daun



(A)

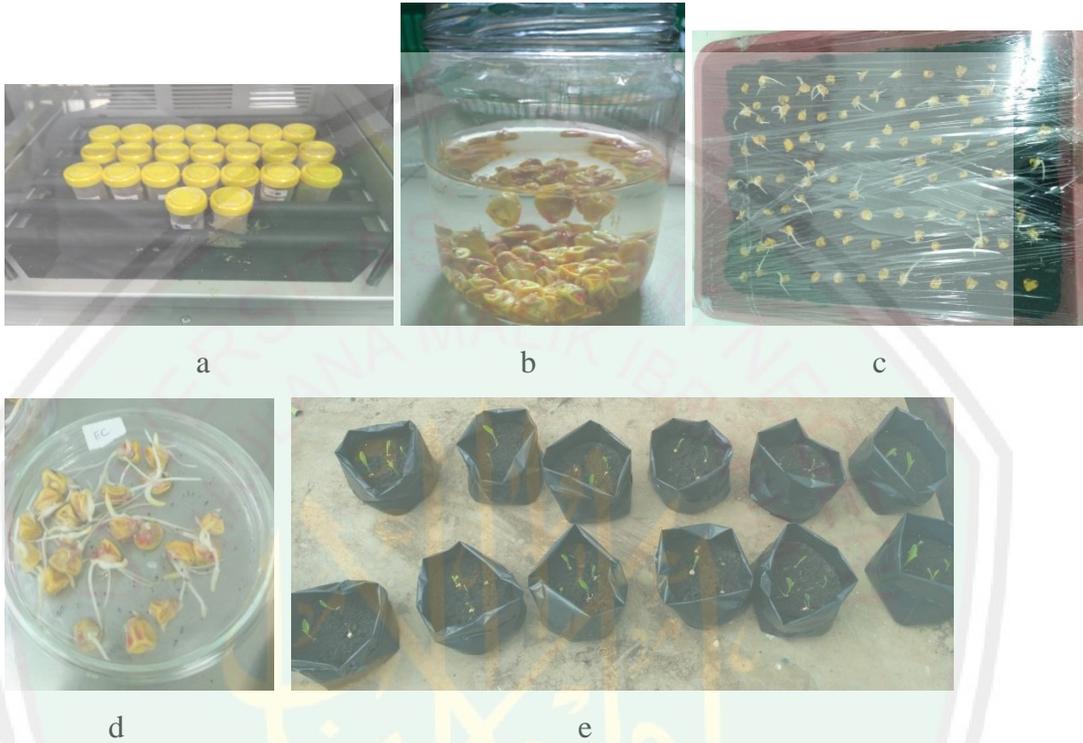


(B)

(A): Tanaman jagung manis kontrol memiliki 5 helai daun yang terbuka sempurna dan 1 helai daun yang masih menggulung

(B): Tanaman jagung manis yang diinokulasikan *Enterobacter cloacae* memiliki 6 helai daun yang terbuka sempurna

Lampiran 7. Gambar Langkah-Langkah Pengujian *In Vitro* dan *In Vivo*



Keterangan:

- a: Inkubasi media dengan perlakuan bakteri endofit pada *shaker incubator* pada suhu ruang selama 7 hari
- b: Benih jagung manis disterilisasi dengan sodium hipoklorit
- c: Benih steril dikecambahkan selama 3 hari sebelum diinokulasikan pada bakteri endofit
- d: Kecambah jagung manis berumur 3 hari direndam dalam suspensi bakteri endofit
- e: Kecambah yang sudah direndam kemudian ditanam pada polybag

Lampiran 8. Gambar Alat Penelitian



(a)



(b)



(c)



(d)



(e)



(f)



(g)



(h)



(i)

Gambar alat-alat penelitian: (a) Hotplate; (b) Laminar Air Flow; (c) Autoklaf; (d) Oven; (e) Neraca analitik; (f) Sentrifuse; (g) Spektrofotometer; (h) Mikropipet; (i) Shaker inkubator

Lampiran 9. Gambar Bahan Penelitian

Gambar Bahan Penelitian: (a) Media TSB; (b) L-triptofan; (c) FeSO₄; (d) MgSO₄; (e) KH₂PO₄; (f) H₂SO₄.

Lampiran 10. Pembuatan Media Pertumbuhan Bakteri dan Reagen Salkowski

1. Media TSB

Media TSB sebanyak 30 gram dilarutkan dalam 1 liter akuades. Tiap 25 ml media TSB dimasukkan ke Erlenmeyer 100ml dan ditambahkan 0,5ml triptofan. Disterilisasi dengan autoklaf.

2. Triptofan

Sebanyak 20mg L-triptofan dilarutkan ke dalam 100 ml akuades hingga homogen.

3. Media M63

K_2HPO_4 13,6 gram dan $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0,5mg dilarutkan dalam akuades. Diatur pH media hingga 7 dengan KOH. Ditambahkan akuades hingga volume mencapai 1 liter. Diautoklaf dan ditambahkan $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1M sebanyak 1ml.

4. Reagen Salkowski

Sebanyak 3,75 ml $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.5M dan 75ml H_2SO_4 pekat dicampurkan ke dalam 125ml akuades dan disimpan dalam botol kaca yang dilapisi dengan aluminium foil sehingga tidak ada cahaya yang masuk.



**KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI**

Jl. Gajayana No.50 Dinoyo Malang (0341)5551345 Fax. (0341)572533

BUKTI KONSULTASI SKRIPSI

Nama : Rizki Muhassonah
NIM : 13620027
Fakultas/ Jurusan : Sains dan Teknologi/ Biologi
Judul Skripsi : Potensi Bakteri Endofit Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) dalam Menambat N₂ di Udara dan Menghasilkan Hormon IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) serta Pengaruhnya terhadap Pertumbuhan Tanaman Jagung Manis (*Zea mays saccharata* Sturt.)
Pembimbing I : Dr. Hj. Ulfah Utami, M.Si
Pembimbing II : Dr. H. Ahmad Barizi, MA

No.	Tanggal	HAL	Tanda Tangan	
1.	24 Januari 2017	Konsultasi Judul	1. <i>[Signature]</i>	
2.	19 Februari 2017	Konsultasi Bab I, II, III		2. <i>[Signature]</i>
3.	13 Maret 2017	Konsultasi Bab I, II, III	3. <i>[Signature]</i>	
4.	27 Maret 2017	Konsultasi Bab I, II, III		4. <i>[Signature]</i>
5.	17 September 2017	Konsultasi Bab IV, V, Lampiran	5. <i>[Signature]</i>	
6.	2 Oktober 2017	Konsultasi Bab IV, V, Lampiran		6. <i>[Signature]</i>
7.	20 Oktober 2017	Konsultasi Bab IV, V, Lampiran	7. <i>[Signature]</i>	

Malang, 13 November 2017



Mengetahui,
Ketua Jurusan Biologi,

[Signature]
Romaidi, M.Si. D.Sc

NIP. 19810201 200901 1 019