

INOKULASI *Azospirillum sp* DARI LAHAN KERING MADURA TERHADAP PERTUMBUHAN TANAMAN JAGUNG

Ach. Khoirul I¹, Ahmad waqi², Mohammad Anwar A², Ummu Fitrothul H²,
Dwi Rahmawati Y², Gita Pawana²

Jurusan Agroekoteknologi Universitas Trunojoyo Madura
Jln. Raya Telang PO Box 2 Kamal Bangkalan 69162
Kontak person: achmadikhwan3695@gmail.com

:

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri *Azospirillum sp* dari Madura, serta mengkaji keandalannya dalam menggantikan pupuk N sintetis. Samel tanah diambil dari Kecamatan Galis, Geger dan Tanahmerah, isolasi dilakukan dengan menggunakan media semi solid Nfb, selanjutnya diuji keandalannya berdasarkan pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman jagung. Diperoleh 1 isolat yang terbaik yaitu isolat yang diisolasi dari rhizosper tanaman Graminae di Kecamatan Galis, namun demikian berdasarkan pertumbuhan tanaman jagung belum bisa menggantikan pupuk N sintetis.

Kata kunci : *Azospirillum sp*, jagung, nitrogen, isolat madura

PENDAHULUAN

Pupuk nitrogen (N) sintetis berasal dari gas alam yang semakin hari jumlahnya semakin terbatas dengan permintaan yang semakin meningkat. Untuk menyikapi hal tersebut yaitu dengan memanfaatkan bakteri penfiksasi nitrogen salah satunya yaitu *Azospirillum sp*. Menurut Choudhury dan Kennedy, 2004; Kennedy *et al.*, 2004) penggunaan bakteri penambat N merupakan teknologi yang tepat guna yang bersifat biologis, sehingga dapat menekan penggunaan N sintetis yang memiliki dampak negatif terhadap kesuburan tanah, salah satunya buruknya sifat fisik tanah serata menyebabkan polusi lingkungan.

Peranan *Azospirillum sp* sangat penting sebagai bakteri penambat N yang bersifat nonsimbiotik. Bakteri ini hidup bebas di daerah perakaran dan di jaringan akar serta batang. Banyak peneliti yang sudah mengetahui tentang potensi dan manfaatnya bagi tanaman sehingga banyak digunakan sebagai *biofertilizer*. Menurut Eckert *et al.*, (2001) salah satu alasan *Azospirillum sp* digunakan sebagai biofertilizer karena memiliki kemampuan menambat N 30% pada tanaman jagung.

Percobaan di lapangan membuktikan bahwa pada kondisi iklim dan keadaan tanah yang berbeda inokulasi *Azospirillum sp* dapat meningkatkan 30 – 50%. Data ini dikumpulkan selama 20 tahun dari seluruh dunia (Katapitya dan Vlassak, 1990), selain itu penambahan bakteri *Azospirillum sp* dapat merangsang peningkatan populasi mikroba di dalam tanah sehingga aktivitas asosiasi mikroba dengan tanaman juga semakin meningkat. Nurmayulis (2005) menjelaskan bahwa bakteri *Azospirillum sp* dapat membentuk koloni yang berasosiasi dengan akar tanaman golongan C4 (seperti jagung, sorgum, dan rumput-rumputan) dan juga tanaman yang lain.

Madura mempunyai karakteristik tanah liat berkapur mengandung pasir dan berbatu yang berbeda dengan daerah lain di Indonesia namun dengan kondisi kekeringan yang mirip dengan Nusa Tenggara Timur. Berdasarkan kondisi faktor fisis ini diharapkan dari Madura dapat diisolasi dan diperoleh bakterigolongan *Azospirillum sp* yang dapat menfiksasi N bebas menjadi N tersedia bagi tanaman jagung sebagai salah satu komoditi dari pulau Madura. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh isolat bakteri *Azospirillum sp*

dari Madura, serta mengkaji keandalannya dalam menggantikan pupuk N sintetik.

METODE PENELITIAN

Isolasi *Azospirillum sp*

Azospirillum sp diisolasi dari tiga kecamatan di Kabupaten Bangkalan, yaitu Geger, Galis, dan Tanahmerah. Sampel tanah (rhizosper) diambil dari perakaran tanaman dari golongan gramineae yang ada di lahan kering. Sampel tanah dimasukkan kantong plastik yang selanjutnya dimasukkan ke dalam cold box untuk di bawa ke laboratorium. Isolasi dilakukan 48 jam setelah sampel sampai di laboratorium yang sebelumnya sampel di simpan pada tempetaur 4⁰C.

Isolasi dilakukan dengan menggunakan media semi selektif nitrogen free broth (Nfb) semi padat yang disiapkan dalam 1 liter aquadest yang mengandung: 5 g asam malat; 0,5 g K₂HPO₄; 0,2 gr MgSO₄.7H₂O; 0,1 g NaCl; 0,02 g CaCl₂.2H₂O; 2 ml larutan unsur mikro; 2 ml bromtimol biru (0,5% larutan dalam 0,2 M KOH); larutan FeEDTA 1,64%; 1 ml larutan vitamin; 1,75 g agar, dengan pH 6,8 yang diatur dengan menggunakan KOH. Larutan unsur mikro disiapkan dalam 1 liter aquadest yang mengandung 0,4 g CuSO₄.5H₂O; 0,12 g ZnSO₄.7H₂O; 1,4 g H₂BO₄; 1 g Na₂MoO₄.2H₂O dan 1,5 g MnSO₄.H₂O. Larutan vitamin disiapkan dalam 100 ml aquadest yang mengandung 10 mg biotin; 20 mg pyridoxol-HCl, (tanpa di autoclaf) (Hastuti, 2007). 10 g sampel rhizosper disuspensikan ke dalam 90 ml larutan garam fisiologis (0,8%) steril, kemudian diaduk sampai terbentuk suspensi yang homogen. Selajutnya dilakukan seri pengenceran sampai 10⁻⁷. Kemudian diinokulasikan pada medi Nfb semi padat dengan metode pour plate. Diinkubasikan pada temperatur ruang 3-5 hari sampai terbentuk pelikel yang berwarna putih (kurang lebih 5 cm dari permukaan media). Kemudian pelikel diisolasi dan dikulturkan pada media agar kentang yang ditambahkan 2 g ekstrak yeast dan diinkubasikan selama 7 hari. Kemudian jika diperoleh koloni tunggal (kecil putih agak kering dan keriting) diisolasi dan dikulturkan

kembali pada media Nfb. Kemudian digoreskan kembali pada media agar kentang untuk memurnikannya.

Pemilihan isolat

Isolat bakteri diseleksi dengan memilih dua isolat terbaik dari masing – masing 5 sampel yang diambil dari 3 kecamatan yaitu Tanah Merah, Galis, dan Geger. Kriteria yang dipilih adalah isolat yang pertumbuhannya cepat dan panjang pada media agar kentang .

Pengujian pada Tanaman

Biji jagung varietas lokal madura sebanyak 3 butir ditanam pada polybak ukuran 20 x 15 cm, kemudian pada saat telah terbentuk 5 daun dipilih 1 tanaman terbaik untuk pengujian selanjutnya. Digunakan rancangan acak lengkap faktor tunggal dengan 6 perlakuan dan 4 ulangan, yaitu KP (kontrol positif), Kn (kontrol negatif), GA inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Galis 1), GB inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Galis 2), TMA inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Tanah Merah 1), TMB inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Tanah Merah 2), GGA inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Geger 1), dan GGB inokulasi isolat *Azospirillum sp* dari (Geger 2). Adapun KN hanya ditambah pupuk P dan K, KP dengan diberi pupuk N, P, dan K, semua inokulasi isolat *Azospirillum sp* di tambahkan pupuk P dan K. Setiap tanaman mendapatkan 10 ml suspensi isolat *Azospirillum sp* dengan kerapatan sel 10⁷ cfu/ml. Kerapatan sel ditentukan dengan metode turbidimeter (berdasarkan tingkat kekeruhan pada media cair). Kemudian setiap minggu mulai umur 3 minggu setelah tanam (MST) sampai 6 MST diamati atau diukur jumlah daun, luas daun, tinggi tanaman dan diameter batang, dan pada saat 8 MST ditimbang berat keringnya (biomassa). Jumlah daun dihitung pada daun yang telah membuka sempurna, luas daun dihitung berdasarkan panjang kali lebar kali faktor koreksi, tinggi batang diukur dari pangkal batang sampai ke titik tumbuh, diameter batang diukur dengan menggunakan jangka sorong, bobot biomassa tanaman (berat kering tanaman) diperoleh dengan mengeringkan biomassa yang pada oven pada tempetaur 80⁰C sampai dipeoleh bobot yang tidak berubah. Data yang

diperoleh dianalisa dengan menggunakan analisa sidik ragam (anova) pada α : 5%, jika terdapat perbedaan nyata dilanjutkan dengan uji beda jarak nyata Duncan pada α : 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil analisa sidik ragam tampak pada 6 MST perlakuan yang diberikan memberikan pengaruh yang nyata pada banyaknya daun, luas daun dan berat kering tanaman pada 8 MST, sedangkan tinggi tanaman dan luas daun tidak dipengaruhi. Pada kontrol positif tampak terdapat jumlah daun terbanyak diikuti dengan inokulasi isolat *Azospirillum sp* TMB, GA dan GGA. Adapun inokulasi ketiga isolat *Azospirillum sp* ini tampak ketiganya memberikan pengaruh yang sama (Tabel 1). Pengaruh inokulasi tiga isolat *Azospirillum sp* ini tetap konsisten pada luas daun, namun pengaruh tersebut sama dengan yang ditunjukkan oleh isolat *Azospirillum sp* GB (Tabel 2). Hal ini menunjukkan bahwa keempat isolat *Azospirillum sp* ini mempunyai kemampuan menfiksasi N yang sama, namun demikian ketersediaan N sebagai hasil dari fiksasi yang dilakukan oleh isolat *Azospirillum sp* GB tampak tidak bisa memberikan jumlah daun yang sama dengan ketiga isolat sebelumnya.

Tabel 1. Hasil pengamatan terhadap jumlah daun

Perlakuan	Waktu Pengamatan (MST)			
	3	4	5	6
KP (kontrol positif)	4,3	36,2	5,3	5,7 d
KN (kontrol Negatif)	5,0	43,5	4,0	3,7 a
TMA	4,7	41,5	5,0	3,7 a
TMB	5,7	46,0	4,0	5,0 c
GA	5,0	49,8	5,0	4,7 c
GB	5,0	41,3	4,7	4,3 b
GGA	3,7	40,3	4,3	4,7 c
GGB	4,7	31,3	3,7	3,7 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan α :5%

GB, TMB, GA dan GGA memberikan pengaruh yang sama terhadap luas daun, namun demikian tampak isolat *Azospirillum sp* GGA dan GA memberikan pengaruh yang

lebih tinggi dan pengaruh inokulasi kedua isolat ini terhadap luas daun sama dengan kontrol positif, hal ini menunjukkan aplikasi kedua isolat ini berpotensi untuk menggantikan aplikasi pupuk N sintetik.

Tabel 2. Hasil pengamatan terhadap luas daun

Perlakuan	Waktu Pengamatan (MST)			
	3	4	5	6
KP (kontrol positif)	121,7	184,3	84,1	740,2 d
KN (kontrol Negatif)	175,0	168,1	96,7	397,9 a
TMA	204,5	209,8	81,9	318,2 a
TMB	224,1	336,9	105,7	585,3 bc
GA	220,2	374,6	77,4	649,3 cd
GB	170,7	267,0	77,3	462,8 ab
GGA	171,0	272,3	88,8	616,3 bcd
GGB	178,0	161,7	66,2	368,3 a

Keterangan: Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada uji Duncan α :5%

Terkait dengan perbedaan dalam ketersediaan N hasil fiksasi dari keempat isolat *Azospirillum sp* ini, bisa dikarenakan bukan kemampuannya dalam menfiksasi N yang berbeda, akan tetapi bisa juga disebabkan karena perkembangan populasi sel yang berbeda. Hal ini seperti yang dikemukakan oleh Husen (2009) bahwa pupuk hayati secara umum mampu dan cukup efektif dalam meningkatkan beberapa aspek pertumbuhan vegetatif, akan tetapi respon tanaman yang lambat diduga akibat rendahnya populasi inokulan di dalam maupun disekitar tanaman. Kondisi ini menunjukkan bahwa keempat isolat tersebut dapat merupakan isoalat dengan strain yang berbeda, sehingga sewaktu diberikan pada rhizosfer jagung bisa mendapatkan kebutuhan sumber daya yang berbeda, mengingat keempat isolat ini diisolasi dari jenis gramineae yang tidak sama. Hal ini seperti yang dijelaskan oleh Widyati, (2013) bahwa di dalam rhizosper akan terjadi dinamika populasi mikroba berkaitan dengan perbedaan eksudat akar tanaman dan bahan organik yang dihasilkan oleh akar selama pertumbuhannya.

Nurmayulis dan Maryati (2008) menjelaskan bahwa, keefektifan *Azospirillum sp* dengan tanaman bergantung pada ketersediaan N dan C sebagai sumber nutrisi dan energi dalam rizosfer. Maka dengan

Energi yang cukup bakteri akan membentuk koloni pada daerah perakaran tanaman sehingga efek dari aktifitasnya yaitu ketersediaan N bagi tanaman akan meningkat. Berdasarkan kondisi yang ada menunjukkan bahwa senyawa yang berindak sebagai sumber C dan N dihasilkan oleh tanaman jagung bisa tidak sama dengan senyawa yang dihasilkan oleh tanaman graminiae dimana isolat *Azospirillum sp* tersebut diisolasi.

Tabel 3. Hasil pengamatan terhadap tinggi tanaman

Perlakuan	Waktu Pengamatan (MST)			
	3	4	5	6
KP (kontrol positif)	23,7	36,2	53,1	68,7
KN (kontrol Negatif)	26,7	43,5	47,0	58,0
TMA	30,3	41,5	49,7	56,6
TMB	32,3	46,0	55,3	48,5
GA	32,7	49,8	60,5	72,6
GB	29,3	41,3	53,0	59,7
GGA	31,7	40,3	51,8	69,1
GGB	29,7	31,3	50,3	59,0

Berdasarkan Tabel 3, dan Tabel 4 tampak inokulasi isolat *Azospirillum sp* tidak memberikan pengaruh terhadap tinggi tanaman dan diameter batang, hal ini menunjukkan bahwa hasil fiksasi N yang dilakukan oleh isolat *Azospirillum sp* tersebut lebih berpengaruh pada jumlah daun dan luas daun dari pada tinggi tanaman dan diameter batang. Selain itu dapat dijelaskan bahwa ketersediaan N yang ada ditanah bisa masih dalam rentang sama untuk bisa berpengaruh pada pembentukan tinggi tanaman ataupun diameter batang, sehingga walaupun N yang diberikan oleh hasil fiksasi isolat *Azospirillum sp* berbeda namun belum cukup bisa untuk mempengaruhi atau memberikan perbedaan dalam tinggi tanaman maupun diameter batang. Selain itu dikemukakan oleh Mala *et al.*, (2010) bahwa tanaman jagung memberikan respon pertumbuhan yang lambat terhadap aplikasi *Azospirillum sp*, sehingga inokulasi *Azospirillum sp* terhadap pertumbuhan tanaman jagung sering tidak nyata.

Tabel 4. Hasil Pengamatan Terhadap Diameter Batang

Perlakuan	waktu pengamatan (MST)			
	3	4	5	6
KP (kontrol positif)	6,0	0,6	1,2	1,4
KN (kontrol Negatif)	0,5	0,7	0,9	0,9
TMA	0,5	0,7	0,8	1,2
TMB	0,5	0,7	0,8	1,2
GA	0,6	0,8	0,9	1,3
GB	0,6	0,7	0,7	0,8
GGA	0,5	0,7	0,9	1,1
GGB	0,5	0,7	0,9	0,8

Berdasarkan Tabel 5, tampak bobot biomassa tanam tertinggi terdapat pada perlakuan kontrol positif, dan berbeda dengan perlakuan lainnya, hal ini menunjukkan sifat dari tanaman jagung yaitu merupakan tanaman C4 sehingga rakus terhadap hara. Berdasarkan kondisi ini menunjukkan bahwa walaupun inokulasi isolat *Azospirillum sp* GA dan GGA terhadap variabel luas daun sama dengan kontrol positif, namun luas daun yang dipengaruhi oleh inokulasi isolat *Azospirillum sp* GA dan GGA tersebut belum bisa memberikan hasil fotosintat yang sama dengan kontrol positif, dengan demikian dapat dikemukakan bahwa secara keseluruhan berdasarkan variabel pertumbuhan inokulasi isolat *Azospirillum sp* pada tanaman jagung belum bisa menggantikan aplikasi pupuk N sintetis.

Tabel 5. Hasil pengamatan terhadap biomassa tanaman

Perlakuan	Biomassa 8 MST
KP (kontrol positif)	12,13 c
KN (kontrol Negatif)	4,27 a
TMA	4,87 a
TMB	6,98 ab
GA	9,01 b
GB	5,81 a
GGA	4,77 a
GGB	Keterangan: 5,52 a

Angka yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbed

KESIMPULAN DAN SARAN

Inokulasi isolat bakteri *Azospirillum* sp dapat mempengaruhi jumlah daun, luas daun dan biomassa tanaman, namun tidak mempengaruhi tinggi tanaman dan diameter batang. Berdasarkan pertumbuhan tanaman jagung inokulasi isolat bakteri *Azospirillum* sp yang diisolasi dari Madura belum dapat menggantikan aplikasi pupuk N sintetis. Isolat bakteri *Azospirillum* sp GA merupakan isolat yang berpotensi untuk menggantikan aplikasi pupuk N sintetis dari pada isolat lainnya.

Selanjutnya untuk mendapatkan informasi yang lebih luas tentang potensi isolat bakteri *Azospirillum* sp yang diisolasi dari Madura perlu dilakukan kajian terhadap aplikasinya pada jenis tanaman dan tanah yang lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Eckert, B.O.B. Weber, G. Kirchof, A. Halbritter, M. Stoffels and A. Hartmann. 2001. *Azospirillum doebereineriae* sp. nov., A nitrogen-fixing bacterium associated with the C4-grass *Miscanthus*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 51: 17–26.
- Husen E. 2009. *Telaah Efektifitas Pupuk Hayati Komersial dalam Meningkatkan Pertumbuhan Tanaman*. Balai penelitian tanah. Bogor. Hal 105-117
- Katupitya, S., and K. Vlassak. 1990. *Colonization of wheat roots by Azospirillum brasilense*. In: *Organic recycling in Asia and the Pacific*. Rapa Bulletin 6:8.
- Kennedy I.R., Choudhury A.T.M.A. and Kecskés M.L. 2004. *Non-symbiotic bacterial diazotrophs in crop farming systems: can their potential for plant growth promotion be better exploited*. *Soil Biology and Biochemistry* 36 : 1229–1244.
- Khairul, U. 2001. *Pemanfaatan bioteknologi untuk peningkatan produksi pertanian*, diunduh tanggal 31 oktober 2011, <http://www.woddagroforestry.org/sea/publocation/files/book/BK002.8pdf>.
- Mala T, S Chotchuangmaneerat, W. Phuengsaeng and J. Phumphet. 2010. Efficiency of *Glomus aggregatum*, *Azotobacter*, *Azospirillum* and Chemical Fertilizer on Growth and Yield of Single Cross Hybrid 4452 Maize. *Natural Science* 44: 789-799.
- Nurmayulis, 2005. *Pertumbuhan dan Hasil Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L.) yang diberi pupuk organik Difermentasi, Azospirillum sp., dan Pupuk Nitrogen di Pangalengan dan Cisarua*. Universitas Padjajaran. Bandung
- Nurmayulis dan Maryati. 2008. *Kandungan Nitrogen dan Bobot Biji Kentang yang Diberi Pupuk Organik Difermentasi, Azospirillum sp., dan Pupuk Nitrogen di Cisarua, Lembang, Jawa Barat*. *J. Tanah Trop.*, Vol. 13, No. 3, 2008: 217-224
- Nursoid 2008, *Kemampuan Azospirillum sp. JG3 dalam menghasilkan lipase pada medium campuran dedak dan onggok dengan waktu inkubasi berbeda*, Fakultas Biologi Universitas Jendral Soedirman, Purwokerta. Widawati, S. 2011a. *diversity and Phosphate Solubilization by bacteria Isolated*.
- Widyati, E. 2013. *Dinamika Komunitas Mikroba Di Rizosfir Dan Kontribusinya Terhadap Pertumbuhan Tanaman Hutan*. *Tekno Hutan Tanaman* Vol 6. No 1: 55 - 64