

POTENSI *Azotobacter* spp. (DARI LAHAN PASANG SURUT KALIMANTAN SELATAN) DALAM MENGHASILKAN *Indole Acetic Acid* (IAA)

The Potency of Azotobacter spp. Isolated from Tidal Land of South Kalimantan to Produce Indole Acetic Acids (IAA)

Fakhrur Razie¹ dan Anas Iswandi²

¹ Jurusan Tanah Fakultas Pertanian Universitas Lambung Mangkurat
Jl. A. Yani KM.36 Banjarbaru Kalimantan Selatan (70714) Tel./Fax. 0511-772254
Email: fakhrurrazie@yahoo.com

² Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan Fakultas Pertanian
Institut Pertanian Bogor, Kampus IPB Darmaga, 16680 Bogor

ABSTRACT

Tidal land area is considered as the most fragile ecosystems. To open this area as agricultural land has to be done carefully. To reduce the risk of declining the environmental quality of tidal swamp area due to the agricultural activity, the area should be managed properly and wisely especially when using agrochemicals such as fertilizers and pesticides. In relation to this, the use of biofertilizer such as Azotobacter spp, a nitrogen fixing bacterium and IAA producer, might be important thing for this area.

The aims of this experiments was to study the ability of Azotobacter isolated from rice' rhizosphere grown in tidal swamp area of South Kalimantan, in producing IAA to stimulate the growth of roots of rice cultivar IR-64. The parameters used to evaluate the effect of Azotobacter inoculation were the increase of the surface area of root, length of roots, total length of roots, fresh, dry weight of rice IR-64 roots and the growth of root hairs.

The results showed that Azotobacter produced less IAA in the media containing Urea (18.28-35.54 ppm IAA) compared to Azotobacter grown in media without Urea (33.89 – 42.01 ppm IAA). Azotobacter T.M.UNST.3 produced the highest IAA (42.01 ppm), therefore they were able to increase the surface of roots, increase the length and weight of roots of rice cultivar IR-64 compared to other Azotobacter strains. In media containing Urea, Azotobacter RG 3.62 produced the least IAA (18.29 ppm IAA) compared to other Azotobacter strains. However, this particular Azotobacter strain was able to increase the surface area of root, increased the number of root hairs compared to other strains.

Key words: *Azotobacter, Indole Acetic Acid, tidal land area*

PENDAHULUAN

Penggunaan pupuk anorganik untuk memenuhi kebutuhan hara tanaman padi di daerah pasang surut kurang efisien. Hal ini disebabkan karena sebagian besar unsur hara terbawa ke luar dari lingkungan perakaran padi akibat air pasang surut. Untuk meningkatkan efisiensi pemupukan di daerah pasang surut beberapa cara telah dilakukan seperti melalui pengaturan waktu pemberian pupuk, penggunaan pupuk lambat tersedia (*slow release fertilizer*) dan perbaikan cara penempatan pupuk sehingga tanaman mudah mengambil unsur hara.

Kemampuan padi dalam mengambil unsur hara tergantung pada luas daerah jelajah akar dan luas permukaan akar yang dapat menyerap unsur hara. Untuk lebih meningkatkan efektifitas pemupukan, usaha yang dapat dilakukan adalah merangsang perkembangan akar dan memperbanyak bulu-bulu akar. Pertumbuhan akar tanaman padi dapat dirangsang dengan pemberian zat pengatur tumbuh seperti IAA.

Bakteri penambat N₂ atmosfer (seperti *Azotobacter* spp.) di lingkungan perakaran tanaman padi di daerah pasang surut diketahui memiliki peranan ganda yaitu selain membantu menambat N₂ dari udara, *Azotobacter* juga menghasilkan IAA sehingga dapat merangsang perkem-

bangkan akar tanaman padi. *Azotobacter* dari rizosfer padi varitas IR-64 di lahan rawa (gambut) dilaporkan dapat meningkatkan serapan hara nitrogen oleh padi varitas IR-64 umur 6 minggu sampai 188% (Iswandi, 2000). *Azotobacter* T.B.PDST.2b dan T.HM.BPMT.2b mampu memasok N untuk pertumbuhan awal tanaman padi IR-64 masing-masing sebesar 2.34 dan 2.14%. Kemampuan kedua *Azotobacter* ini sudah menyamai pasokan N dari pupuk urea sebesar 2.2% N (Razie, 2003).

Selain memiliki kemampuan menambat N₂, *Azotobacter* juga memiliki kemampuan mensintesis hormon pertumbuhan tanaman (*Fitohormon*), seperti *indole acetic acid* (IAA) yang merupakan senyawa aktif dari auxin. El-khawas dan Adachi (1999) menemukan bahwa terjadi penambahan panjang akar, luas permukaan akar, bobot kering dan basah akar, dan ditemukannya rambut akar dan akar lateral pada padi varietas Chiyonishiki yang diinokulasi dengan bakteri penambat N₂ atmosfer seperti *Azospirillum brasiliense* dan *Klebsiella pneumoniae*. Sehubungan dengan itu, dalam penelitian ini dilakukan pengujian apakah *Azotobacter* yang diisolasi dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan juga memiliki kemampuan menghasilkan IAA sehingga mendukung pertumbuhan akar padi IR-64.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan *Azotobacter* yang diisolasi dari daerah pasang surut Kalimantan Selatan dalam meningkatkan pertumbuhan akar padi varietas IR-64 yang disebabkan oleh IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter* tersebut.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Isolat *Azotobacter* spp. yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari persawahan daerah pasang surut Kalimantan Selatan, yaitu *Azotobacter* T.B.MGSR.1; T.B.PDST.2b; T.M.UNST.3; RG.3.17; RG.3.18; RG.3.35 dan RG.3.62. Sebagai pembanding digunakan *Azotobacter* 07.1/TNH/II merupakan koleksi Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor. Padi varietas IR-64 diperoleh dari Dinas Pertanian Tanaman Pangan Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan. Media yang digunakan untuk memperbanyak *Azotobacter* adalah *Nitrogen Free Media* (NFM) (Atlas, 1997), dan media *Nutrient Broth* (NB) serta larutan hara menurut Yoshida *et al.* (1976 dalam IRR, 2003).

Untuk mengamati perkembangan akar digunakan foto stereo mikroskop merek "Zeiss" model Stemi 2000c dan menetapkan IAA yang dihasilkan menggunakan HPLC merek "Shimadzu Liquid Chromatograph LC-3A" dengan *Detector Absorbance Spectrophotometric* pada panjang gelombang 254 nm.

Metodologi

Penelitian terdiri dari dua percobaan. Percobaan pertama merupakan percobaan penanaman pada media Yoshida yang tidak ditambah urea. Perlakuan terdiri dari inokulasi media dengan *Azotobacter* dengan lima perlakuan yaitu : kontrol (tanpa inokulasi); inokulasi dengan *Azotobacter* T.B.MGSR.1; T.B.PDST.2b; T.M.UNST.3; 07.1/TNH/II. Perlakuan dirancang dengan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan tiga ulangan. Uji lanjut yang digunakan adalah Duncan Multiple Range Test (DMRT). Pada percobaan kedua, sama dengan percobaan pertama tetapi menggunakan larutan Urea (40 ppm N) dan inokulan *Azotobacter* yang diuji adalah *Azotobacter* RG.3.17; RG.3.18; RG.3.35; RG.3.62; T.B.PDST.2b dan 07.1/TNH/II. Setiap perlakuan diulang tiga kali.

Pelaksanaan

Persiapan dan perkecambahan benih IR-64

Benih padi IR-64 disterilkan permukaan benihnya dengan merendam benih larutan H₂O₂ 30% selama satu menit dan dibilas dengan aquades steril sebanyak empat kali. Benih yang telah steril direndam semalam dalam aquades steril (Iswandi, 1999). Benih yang telah steril dikecambahkan pada kertas merang steril yang dilembabkan dengan air steril dan disimpan ditempat yang gelap selama 2-3 hari. Selama penyimpanan kelembaban kertas merang dijaga agar benih dapat tumbuh dengan baik.

Persiapan media tumbuh

Media tumbuh benih padi yang digunakan adalah tabung reaksi 150 ml yang diberi media agar dengan larutan hara Yoshida (0.01% agar). Pada percobaan pertama, larutan hara Yoshida tidak diberi pupuk Urea sedangkan pada percobaan kedua, larutan Yoshida diberi Urea sebanyak 40 ppm N. Media tumbuh tersebut disteril menggunakan autoklaf pada temperatur 120°C dan pada tekanan 0.1 MPa.

Persiapan inokulan dan inokulasi *Azotobacter*

Isolat *Azotobacter* murni diperbanyak dengan menggunakan 50 ml media *Nutrient Broth*, dikocok selama tiga hari dengan kecepatan 120 rpm pada temperatur ruang. Inokulasi *Azotobacter* dilakukan sebelum penanaman padi pada media Yoshida. Setiap tabung reaksi diberikan sebanyak 10⁸ sel (1 ml) *Azotobacter*.

Penanaman padi IR-64

Benih Padi IR64 steril yang berkecambah ditumbuhkan pada media Yoshida yang telah diinokulasi dengan *Azotobacter* dalam tabung reaksi berukuran 150 ml. Setiap media dimasukan satu benih padi steril yang telah dikecambahkan. Selanjutnya tanaman dibiarkan tumbuh di tempat yang mendapat cahaya selama tiga minggu.

Pengamatan

Kemampuan *Azotobacter* dalam meng-hasilkan *Indole Acetic Acid* pada media Yoshida dilakukan setelah ditumbuhkan 72 jam sesuai dengan metode yang dikemukakan oleh Pratiwi (1999). Setelah tanaman berumur tiga minggu dilakukan pengamatan terhadap peubah-peubah:

1. Panjang dan total panjang akar diukur menggunakan metode *Scan* menggunakan *SCI-SCAN Image Analysis Software* versi 2.0 menurut Kirchof dan Pender (1993),
2. Luas permukaan akar menggunakan metode *Gravimetri* menggunakan larutan Ca(NO₃)₂ (Carley dan Watson, 1966), Akar tanaman padi yang telah dikering udarakan dicelupkan pada larutan Ca(NO₃)₂ yang diletakan di atas neraca analitik selama beberapa detik hingga seluruh permukaan akar terselimuti larutan. Selanjutnya ditiriskan dalam beberapa detik. Luas permukaan akar dihitung berdasarkan selisih dari berat larutan Ca(NO₃)₂ sebelum dan sesudah dicelup oleh akar.
3. Bobot basah dan bobot kering akar,
4. Rambut akar sekunder secara mikroskopik. Satu potong akar sekunder tanaman pada petridish yang berisi 10 ml aquadest dan selanjutnya diletakkan di bawah mikroskop untuk pengamatan. Pengambilan foto akar dilakukan pada pembesaran 20 hingga 62.5 kali.

Analisa data

Untuk mengetahui pengaruh dari *Azotobacter* terhadap peubah-peubah yang diukur dilakukan analisis ragam dengan uji lanjut menggunakan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT) pada taraf nyata 5%.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil analisis ragam terhadap peubah-peubah yang diamati, *Azotobacter* yang diinokulasi pada media yang tidak diberi pupuk urea berpengaruh nyata terhadap peningkatan luas permukaan, panjang dan bobot basah akar padi IR-64 setelah tiga minggu. Sedangkan *Azotobacter* yang diinokulasi pada media yang diberi pupuk Urea berpengaruh nyata hanya terhadap luas permukaan akar padi IR-64.

Azotobacter spp. dari persawahan daerah pasang surut Kalimantan Selatan yang diinokulasikan pada tanaman padi IR-64 baik pada media yang tidak diberi ataupun diberi pupuk urea menunjukkan kemampuannya dalam menambah luas permukaan akar padi IR-64 dapat dilihat pada Tabel 1. Jumlah IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter* T.B. PDST.2b yang tidak diberi pupuk urea (36,67 ppm IAA) relatif lebih tinggi dibanding *Azotobacter* T.B. PDST.2b yang diberi pupuk urea (25,57 ppm IAA), secara umum juga terlihat bahwa Jumlah IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter* yang tidak diberi pupuk urea (33,89 – 42,01 ppm IAA) relatif lebih tinggi dibanding tidak diberi pupuk urea (18,29-35,54 ppm IAA). Jumlah IAA yang dihasilkan tersebut relatif sama dengan jumlah IAA yang dihasilkan oleh *Azospirillum brasiliense* dan *Klebsiella pneumoniae* (masing-masing 46 ppm IAA dan 26 ppm IAA) pada media yang telah diberi 100 ppm triptofan, seperti yang dilaporkan oleh (El-khawas dan Adachi, 1999). Mereka melaporkan bahwa *Azospirillum brasiliense* dan *Klebsiella pneumoniae* menghasilkan berturut-turut sebanyak 5-46 ppm IAA dan 11-35 ppm IAA

Peningkatkan luas permukaan akar IR-64 pada media yang tidak diberi urea seiring dengan peningkatan jumlah IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter*. Pada media yang tidak diberi urea, *Azotobacter* T.M.UNST.3 menghasilkan IAA (42.01 ppm IAA) dan penambahan luas permukaan akar (132.18 mg Ca(NO₃)₂ per tanaman) tertinggi dibanding dengan *Azotobacter* lainnya. Peningkatan luas permukaan akar IR-64 pada media yang ditambah urea tidak seiring dengan jumlah IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter*. *Azotobacter* RG.3.17 pada media yang ditambah urea

menghasilkan 35.54 ppm IAA, tetapi hanya mampu menambah luas permukaan akar IR-64 sebesar 209% dan menumbuhkan rambut akar hanya pada bagian pangkal akar sekunder. Sebaliknya *Azotobacter* RG 3.62 pada media yang ditambah urea memproduksi IAA terendah (18, 29 ppm IAA) akan tetapi mampu menambah luas permukaan akar sebesar 249% dan menumbuhkan rambut akar dari pangkal hingga ke ujung akar sekunder. Luas permukaan akar padi IR-64 pada media Yoshida yang tidak diinokulasi dengan *Azotobacter* dan tidak diberi pupuk urea lebih luas dibanding dengan luar permukaan akar padi IR-64 yang ditanam pada media yang diberi urea. Pada kondisi tidak diberi hara N, untuk memenuhi kebutuhan haranya, akar tumbuh lebih panjang, sehingga terjadi penambahan luas permukaan akarnya.

Efektifitas *Azotobacter* dalam mendukung pertumbuhan akar padi IR-64 tidak dipengaruhi oleh pemberian pupuk Urea. *Azotobacter* T.B.PDST.2b, memiliki kemampuan yang sama dalam menumbuhkan rambut akar sekunder baik ditambah ataupun tidak ditambah urea.

Peningkatan jumlah IAA yang dihasilkan pada media yang tidak dipupuk urea diiringi dengan pertumbuhan rambut akar sekunder padi IR-64. Pada media yang dipupuk urea, terjadi pola yang tidak beraturan dalam hal pertumbuhan rambut akar sekunder. Pertumbuhan rambut akar sekunder IR-64 secara mikroskopik pada media yang diberi dan tidak dipupuk urea dapat dilihat pada Gambar 1.

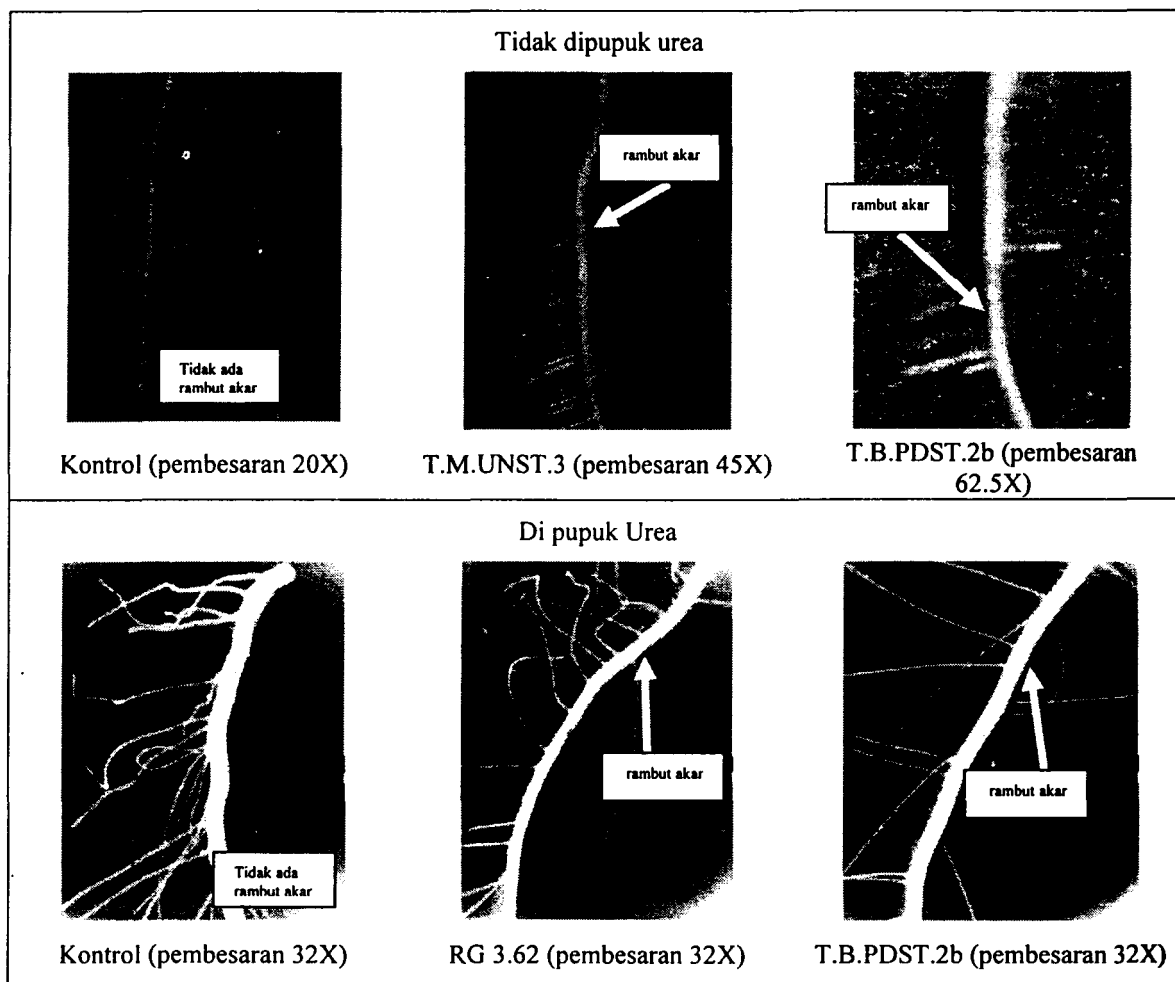
Azotobacter dari persawahan pasang surut Kalimantan Selatan memiliki kemampuan menambah panjang akar dan bobot basah akar padi IR-64 pada media hara yang tidak diberi pupuk urea. Pada Gambar 2 terlihat bahwa penambahan panjang dan bobot basah akar secara nyata terlihat pada inokulasi *Azotobacter* T.M.UNST.3 (17.53 cm dan 230.3 mg pot⁻¹) dibanding *Azotobacter* lainnya (13.49-15.76 cm dan 117.3 – 112.65 mg pot⁻¹). Hal ini berkaitan dengan kemampuan *Azotobacter* T.M.UNST.3 memproduksi IAA yang relatif lebih tinggi. Kandungan IAA yang tinggi merangsang pertumbuhan akar melalui penambahan panjang ataupun luas permukaan akar, sehingga akar memiliki kemampuan mengikat air dan menambah bobot basah akar secara nyata.

Tabel 1. Produksi IAA dari *Azotobacter* spp. Setelah Diinkubasi 72 Jam dan Peranannya terhadap Pertumbuhan Akar Padi IR-64

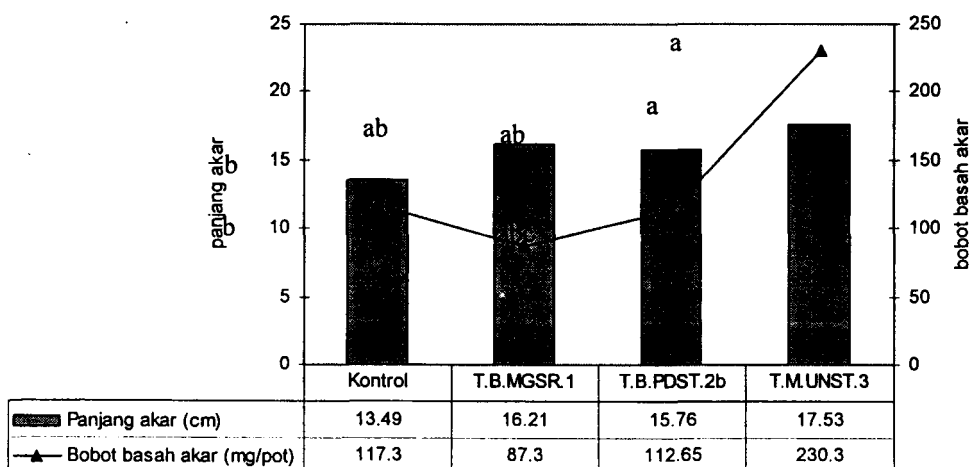
	<i>Azotobacter</i>	IAA * (ppm)	Luas Permukaan Akar		Rambut akar
			mgCa(NO ₃) ₂ /tan	% penambahan	
Tanpa Urea	KONTROL	0	40.07	100 c	Tidak ditemukan
	T.B.MGSR.1	33.89	69.77	174 bc	Pangkal – tengah
	T.B.PDST.2b	36.67	76.18	190 b	Pangkal – ujung
	T.M.UNST.3	42.01	132.18	330 a	Pangkal – tengah
Ditambah Urea	KONTROL	0	12.30	100 b	Tidak ditemukan
	RG 3. 62	18.29	30.80	249 ab	Pangkal – ujung
	RG 3. 35	19.78	24.80	201 ab	Pangkal
	T.B. PDST. 2b	25.57	15.50	126 ab	Pangkal – ujung
	07.1/TNH/II	28.98	22.30	181 ab	Tidak ditemukan
	RG 3. 18	32.41	23.80	193 ab	Pangkal – ujung
	RG 3. 17	35.54	25.80	209 ab	Pangkal

Keterangan : * *Azotobacter* ditumbuhkan pada media cair NFM

** Analisis Ragam dan DMRT taraf nyata 0.05 tanpa dipupuk dan dipupuk N dilakukan terpisah



Gambar 1. Kenampakan Rambut Akar Sekunder Secara Mikroskopik.



Gambar 2. Kemampuan *Azotobacter* dalam Menambah Panjang dan Bobot Basah Akar Padi IR64 pada Media yang Tidak Ditambah Urea

KESIMPULAN

1. Produksi IAA yang dihasilkan *Azotobacter* pada media yang dipupuk urea (18.28 – 35.54 ppm IAA) relatif lebih rendah dibanding yang dihasilkan pada media yang tidak dipupuk urea (33.89-42.01 ppm IAA).
2. Pada media yang tidak ditambah urea, penambahan luas permukaan akar IR-64 seiring dengan peningkatan IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter* sedangkan pada media dipupuk urea, penambahan luas permukaan akar tidak sejalan dengan peningkatan IAA yang dihasilkan oleh *Azotobacter*.
3. Pada media yang tidak ditambah urea, *Azotobacter* T.M.UNST.3 menghasilkan IAA tertinggi (42.01 ppm IAA) sehingga memiliki kemampuan menambah luas permukaan, menambah panjang dan bobot akar padi IR-64 lebih tinggi dibanding *Azotobacter* lainnya dan menumbuhkan rambut akar sekunder dari pangkal hingga ujung akar.
4. Pada media yang ditambah Urea (40 ppm N), walaupun *Azotobacter* RG 3.62 memproduksi IAA paling rendah (18.29 ppm IAA), akan tetapi memiliki kemampuan menambah luas permukaan akar yang lebih tinggi dibanding *Azotobacter* lainnya dan menumbuhkan rambut akar sekunder dari pangkal hingga ujung akar.

DAFTAR PUSTAKA

- Atlas, R.M. 1997. Handbook of Microbiological Media. Macmillan Publishing Co. New York.
- Carley, H.E. and R.D. Watson. 1966. A new gravimetric method for estimating root-surface areas. *Soil Sci.* 102 (5) : 289 – 291.
- El-Khawas, L. and H. Adachi. 1999. Identification and quantification of auxins in culture media of *Azospirillum* and *Klebsiella* and their effect on rice roots. *Biol Fertil Soils* 28 : 377 - 381
- IRRI. 2003. Straw and Fertilizer Management. <http://www.irri.org/tropice/default.htm>. diakses pada tanggal 6 April 2003.
- Iswandi, A. 1999. Peningkatan padi lahan rawa (gambut) satu juta hektar di Kalimantan Tengah melalui pemanfaatan mikroba rizosfer penambat nitrogen dan pelarut fosfat. Laporan RUT 1999-2000. Kantor Menteri Negara Riset dan Teknologi. Dewan Riset Nasional. Jakarta.
- Iswandi, A. 2000. Kemampuan bakteri penambat nitrogen dan mikroba pelarut fosfat dalam meningkatkan pertumbuhan padi (*Oryza sativa*) IR64. *Comm.Ag.* 6(1):18-24.
- Kirchhof, G. and C. Pender. 1993. SCI-SCAN Image Analysis Software version 2.0. CSIRO. Australia.
- Razie, F. 2003. Karakteristik *Azotobacter* spp. dan *Azospirillum* spp. dari rizosfer padi sawah di daerah dataran banjir Kalimantan Selatan dan pengaruhnya terhadap pertumbuhan awal tanaman padi. Institut Pertanian Bogor. Tesis S2 Fakultas Pasca Sarjana IPB (tidak dipublikasikan).
- Pratiwi, E. 1999. Karakterisasi Mutan Biosintesis Asam Indola Asetat (IAA) pada *Azospirillum* spp yang Dihasilkan dari Mutagenesis Transposon. Institut Pertanian Bogor. Tesis S2 Fakultas Pasca Sarjana IPB (tidak dipublikasikan).