

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Kedelai merupakan komoditas pertanian yang dibutuhkan di Indonesia. Kedelai dapat digunakan sebagai bahan baku pembuatan kecap, tahu, tempe, susu kedelai, maupun kosmetik. Pada tahun 2014, Kementerian Pertanian mencanangkan Indonesia diharapkan mampu swasembada kedelai (Deptan 2010). Hal ini dilakukan untuk mengurangi impor untuk pemenuhan kedelai di Indonesia. Salah satu caranya ialah dengan peningkatan produktivitas dan pengelolaan tanaman terpadu, termasuk di dalamnya penggunaan pupuk untuk meningkatkan produktivitas kedelai.

Penggunaan pupuk kimiawi saat ini sudah banyak dikurangi. Salah satu cara mengurangi penggunaan pupuk kimiawi ialah dengan penggunaan pupuk hayati. Menurut Vessey (2003), pupuk hayati adalah pupuk yang mengandung mikroorganisme sehingga dapat memacu pertumbuhan tanaman ketika diaplikasikan ke tanaman dengan mekanisme meningkatkan ketersediaan unsur hara tanaman. Mikroorganisme tersebut diantaranya ialah kelompok rhizobakteria pemacu tumbuh tanaman atau disebut *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). PGPR didefinisikan sebagai bakteri yang berhabitat di rizosfer serta secara aktif mengkolonisasi permukaan akar dan memiliki kemampuan untuk memacu pertumbuhan tanaman (Kloepper & Scroth 1981).

Bakteri yang diinokulasi ke pupuk hayati pada penelitian kali ini ialah *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Bradyrhizobium japonicum*. *Bacillus* sp. merupakan bakteri berbentuk batang, memiliki endospora dan bersifat gram positif (Berber & Yenidunya 2005). *Pseudomonas* sp. merupakan bakteri dengan sel berbentuk batang lurus atau melengkung, motil, serta bersifat gram negatif (Imen *et al.* 2010). Dari penelitian sebelumnya, diketahui isolat *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. mampu melarutkan fosfat, menghasilkan hormon pertumbuhan IAA, dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman atau kecambah kedelai (Wahyudi *et al.* 2007, Astuti 2008, Astuti 2008, Sulistiyani 2009).

Bradyrhizobium japonicum merupakan bakteri memiliki sel berbentuk batang bersifat gram negatif, pertumbuhan lambat, mampu menambat nitrogen dan mampu membentuk bintil akar pada tanaman legum (Saito *et al.* 2002). Penelitian sebelumnya menyatakan

bahwa isolat *Bradyrhizobium japonicum* juga mampu meningkatkan produktivitas tanaman kedelai (Handayani 2009). Kumpulan isolat *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., dan *Bradyrhizobium japonicum* 11 diketahui mampu mengendalikan cendawan patogen akar tanaman kedelai (Sulistiyani 2009). Dari potensi ketiga genus bakteri tersebut, bakteri ini dapat dimanfaatkan untuk pupuk hayati. Menurut Vessey (2003), tidak semua bakteri PGPR dapat dimanfaatkan untuk pupuk hayati, hanya kelompok PGPR yang mampu meningkatkan unsur hara bagi tanaman baik secara langsung ataupun tidak langsung yang dapat dimanfaatkan untuk pupuk hayati.

Formulasi adalah tahap dari proses pembuatan pupuk hayati yang diantaranya bertujuan agar bakteri atau mikroorganisme mudah diaplikasikan ke tanaman atau tanah, serta meningkatkan daya hidup sel bakteri dengan cara melindunginya dari kekeringan (Heijen *et al.* 1993). Berbagai bahan pembawa dapat digunakan pada proses formulasi, baik organik seperti gambut atau anorganik seperti *talc*, zeolit, kaolinit, monmorilonit, pyropilit, dan vermikulit (Nakkeran *et al.* 2005). Pada penelitian ini formulasi pupuk hayati dibuat dalam tiga tipe bentuk yaitu granul, serbuk, dan tepung dengan menggunakan bahan pembawa gambut, *talc*, zeolit dan kaolinit.

Tujuan

Penelitian ini bertujuan memformulasi pupuk hayati rhizobakteria pemacu tumbuh dan menguji efektivitasnya terhadap pertumbuhan tanaman kedelai di rumah kaca.

Waktu dan Tempat

Penelitian dilaksanakan pada bulan Januari hingga Oktober 2010 di Laboratorium Mikrobiologi FMIPA IPB, dan Laboratorium Mikrobiologi Balai Penelitian Tanah, Cimanggu-Bogor.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan ialah isolat *Bacillus* sp. Cr 24, Cr 44, dan Cr 66. Isolat *Pseudomonas* sp. Crb 3, Crb 17, dan Crb 68, dan isolat *Bradyrhizobium japonicum* Bj 11 (Astuti 2008, Sulistiyani 2009). Media yang digunakan antara lain *nutrient agar* (NA), King'S B, susu skim + molase, dan *potato dextrose broth* (PDB). Bahan pembuatan pupuk ialah gambut, *talc*, zeolit, kaolinit,

kapur pertanian (kaptan) dan fosfat alam. Kedelai yang digunakan ialah varietas Wilis. Tanah yang digunakan berasal dari daerah Jonggol, Bogor yang tergolong tanah bereaksi agak netral (pH >6,5). Tanah disiapkan dalam polibag plastik, 0,5 kg untuk percobaan tanah steril dan 2 kg untuk percobaan tanah non-steril.

Alat yang digunakan diantaranya ialah pan granulator berdiameter 60 cm dengan kecepatan 30 rpm, hemasitometer, dan per alatan laboratorium yang umum digunakan pada laboratorium mikrobiologi.

Metode

Peremajaan Isolat

Masing-masing isolat diremajakan pada media agar miring *nutrient agar* (NA) untuk *Bacillus* sp., King's B untuk *Pseudomonas* sp. dan *yeast mannitol agar* (YMA) untuk *Bradyrhizobium japonicum* sebelum digunakan dalam penelitian. Kemudian, ketiganya diinkubasi pada suhu ruang (27^o C) dengan rentang waktu dua hari sampai seminggu.

Optimasi Medium

Optimasi medium dilakukan untuk mencari medium alternatif pengganti medium laboratorium. Media alternatif yang dipakai ialah media susu skim + molase dan *potato dextrose broth* (PDB). Isolat-isolat yang digunakan ditumbuhkan pada kedua medium sebagai inokulan starter. Inokulan starter sejumlah 5% diinokulasikan ke media alternatif PDB dan susu skim, diinkubasi pada suhu ruang (27^o C) dan dikocok dengan kecepatan 125 rpm. Pada jam ke- 0, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 60, dan 72 populasi bakteri dihitung dengan menggunakan hemasitometer untuk mengetahui waktu pertumbuhan maksimum dari masing-masing isolat.

Persiapan Bahan Pembawa

Bahan pembawa yang disiapkan untuk masing-masing bentuk inokulan (serbuk, tepung dan granul) ialah gambut, *talca*, kapur pertanian (kaptan), fosfat alam, zeolit, dan kaolinit. Penyiapan bahan pembawa tersebut menyesuaikan dengan prosedur Somasegaran & Hoben (1994). Nilai pH bahan pembawa diatur mendekati pH 7,0 dengan penambahan kaptan. Total kapur pertanian yang ditambahkan untuk mencapai pH netral ialah 5% dari total berat campuran. Komposisi pupuk bentuk serbuk yaitu gambut 85%,

fosfat alam 10%, dan kaptan 5% dari total berat campuran. Bahan-bahan ini kemudian dicampur hingga rata, lalu dikemas dengan berat 50 gram setiap *sachet*. Sedangkan untuk komposisi granul yaitu gambut 60%, kaolinit 5%, fosfat alam 10%, kaptan 5% dan zeolit 20% dari total berat campuran. Setelah itu, semua bahan diaduk hingga rata dan dikemas menjadi 250 gram setiap *sachet*. Berbeda dari pupuk serbuk dan granul, persiapan bahan pembawa pupuk tepung mengikuti prosedur Nandakumar *et al.* (2001). Nilai pH *talca* (Mg₃Si₄O₁₀(OH)₂) untuk bahan pembawa bentuk tepung sudah mendekati pH 7,0. Bahan *talca* (Mg₃Si₄O₁₀(OH)₂) dikemas sebanyak 300 gram/*sachet*. Semua bahan pembawa yang telah dikemas selanjutnya disterilisasi pada suhu 121^o C dan tekanan 1 atm selama 15 menit sebanyak dua kali.

Inokulasi Bakteri ke Dalam Bahan Pembawa

Bakteri yang telah ditumbuhkan di media alternatif digabung menjadi 3 paket formulasi yang masing-masing paket mengandung 3 isolat bakteri berbeda dengan perbandingan volume 1:1:1. Paket campuran diberi kode N-Sr (Crb 3, Cr 66, dan Bj 11), N-Fo (Crb 17, Cr 24, dan Bj 11), dan N-Rs (Crb 68, Cr 44, dan Bj 11). Campuran bakteri ini diinokulasi ke tiap bentuk pupuk (granul, serbuk, tepung). Jumlah populasi bakteri yang diinokulasi ke pupuk serbuk 8,1x10⁸ sel/mL menggunakan *syringe* steril. Sedangkan jumlah populasi bakteri yang diinokulasi 1,35x10⁹ sel/mL untuk pupuk tepung, dan 1,78 x10⁹ sel/mL untuk pupuk granul di mesin granulasi. Pupuk hayati bentuk granul dan tepung dikering-anginkan lalu kemudian dikemas 50 gram/*sachet*.

Uji Aktivitas Pemacu Tumbuh pada Tanaman Kedelai

Uji aktivitas pemacu tumbuh pada tanaman kedelai dilakukan di rumah kaca. Uji ini menggunakan tanah steril dan nonsteril. Tanah steril sebelumnya diperkaya dengan pupuk tunggal N:P:K dengan dosis 6,25 mg urea: 37,5 mg SP36: 25 mg KCl per 500 gram tanah. Tanah disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121^o C dan tekanan 1 atm selama satu jam dan sebanyak dua kali, sedangkan untuk tanah nonsteril juga diperkaya dengan pupuk tunggal N:P:K dengan dosis empat kali lipat dari dosis tanah steril. Tanah yang telah dipersiapkan tersebut kemudian dimasukkan ke pot plastik

polietilen yang telah disterilisasi permukaan dengan cara merendamnya dalam alkohol 90%.

Inokulasi biji kedelai dilakukan dengan menaburi biji kedelai lembab dengan serbuk atau tepung dari masing-masing paket formula. Tiga tingkat dosis paket serbuk atau tepung yang digunakan, yaitu 0,06 gram, kedua 0,12 gram, dan ketiga 0,18 gram per 30 biji kedelai. Dua biji kedelai yang telah diinokulasi ditumbuhkan pada setiap pot. Untuk paket granul, inokulasi dilakukan di dalam lubang tanam dengan aplikasi langsung satu granul dengan biji kedelai tiap lubang tanam. Pemberian dosis berdasarkan ukuran granul Dosis 1 menggunakan ukuran granul 3 mm - 5 mm. Dosis 2 granul ukuran 5 mm - 10 mm. Dosis 3 2 kalinya dosis 2. Penjarangan dilakukan pada 5 hari setelah tanam (HST), sehingga hanya satu tanaman setiap pot. Tanaman ditumbuhkan selama 30 hari.

Rancangan Percobaan

Penelitian disusun dalam rancangan acak lengkap (RAL) dengan 28 perlakuan dengan tiga ulangan pada masing-masing perlakuan. Parameter tumbuhan yang diukur ialah tinggi tanaman, berat basah tajuk dan akar, dan berat kering tajuk dan akar (pengeringan 70^o C). Analisis sidik ragam dilakukan dengan menggunakan *software* SAS 9.1. Beda nyata antar perlakuan dilakukan menggunakan uji jarak berganda *Duncan* (DMRT) pada taraf 5% ($\alpha=0.05$).

HASIL

Peremajaan Isolat

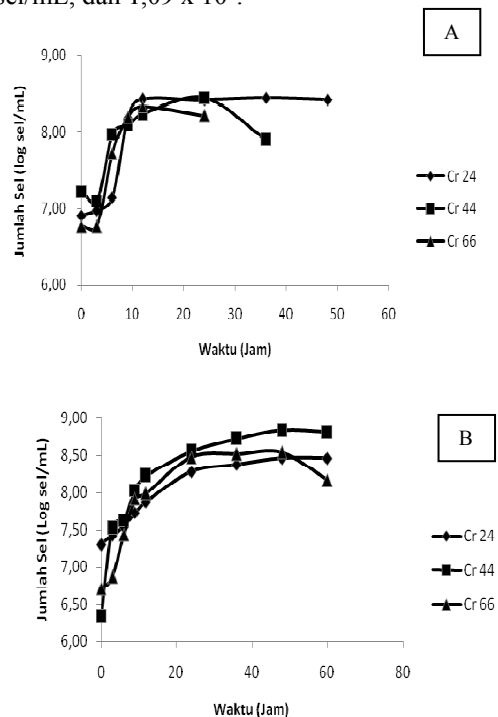
Ketiga bakteri dari kumpulan isolat *Bacillus* sp. yang digunakan yaitu isolat Cr24, Cr 44, dan Cr 66 dapat tumbuh baik pada media nutrient agar dan kumpulan isolat *Pseudomonas* sp. yaitu isolat Crb3, Crb17, dan Crb18 di media agar-agar King's B dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu ruang. Demikian juga *Bradyrhizobium japonicum* dapat tumbuh baik pada media *yeast mannitol agar* dengan waktu inkubasi lima hari pada suhu ruang.

Optimasi Medium

Hasil optimasi media alternatif yaitu PDB dan susu skim + molase menunjukkan bahwa bakteri dapat tumbuh baik pada kedua media alternatif. Namun, untuk produksi biomassa sel media susu skim + molase lebih baik dibandingkan dengan media PDB. Hal ini dapat terlihat pada kurva tumbuh isolat

Bacillus sp. di media PDB (Gambar 1a) isolat Cr 24, Cr 44, dan Cr 66 mencapai jumlah maksimum masing-masing $2,79 \times 10^8$ sel/mL, $2,8 \times 10^8$ sel/mL, dan $2,16 \times 10^8$ sel/mL. Sedangkan di media susu skim + molase (Gambar 1b), ketiganya secara berurutan mencapai jumlah populasi $2,9 \times 10^8$ sel/mL, $6,88 \times 10^8$ sel/mL, dan $3,48 \times 10^8$ sel/mL.

Hal yang sama juga terjadi pada kumpulan isolat *Pseudomonas* sp. yaitu isolat Crb 3, Crb 17 dan Crb 68, pada media PDB (Gambar 2a) ketiganya mencapai jumlah populasi maksimum $4,37 \times 10^8$ sel/mL, $5,6 \times 10^8$ sel/mL, dan $1,09 \times 10^9$.



Gambar 1 Kurva tumbuh isolat *Bacillus* sp. yaitu isolat Cr 24(- ◆ -) Cr 44 (- ■ -), dan Cr 66 (- ▲ -) di media alternatif (A) *potato dextrose broth* dan (B) media cair susu skim + molase.

Pada media susu skim (Gambar 2b) ketiganya mencapai jumlah populasi maksimum 1×10^8 sel/mL, $1,09 \times 10^8$ sel/mL, dan $1,28 \times 10^9$ sel/mL. Untuk *Bradyrhizobium japonicum* 11 pada media PDB mencapai jumlah populasi maksimum $5,6 \times 10^{10}$ sel/mL sedangkan pada media susu skim + molase dengan konsentrasi sel $1,13 \times 10^{10}$ sel/mL (Gambar 3). Sehingga pada tahap selanjutnya untuk memproduksi biomassa inokulan menggunakan media susu skim + molase.