

KARAKTERISASI BAKTERI *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA* (PGPR) DARI RIZOSFER *Bambusa spinosa* Roxburgh SEBAGAI PENGHASIL AUKSIN, PENAMBAT NITROGEN, DAN PELARUT FOSFAT.

SKRIPSI



RIEKE DWI AYUNI

NIM. 2103020024

PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI

FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN

2025

KARAKTERISASI BAKTERI *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA* (PGPR) DARI RIZOSFER *Bambusa spinosa* Roxburgh SEBAGAI PENGHASIL AUKSIN, PENAMBAT NITROGEN, DAN PELARUT FOSFAT.

SKRIPSI



RIEKE DWI AYUNI

NIM. 2103020024

PROGRAM STUDI S1 BIOLOGI

FAKULTAS SAINS TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH LAMONGAN

2025

LEMBAR PERNYATAAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Rieke Dwi Ayuni
NIM : 2103020024
Tempat, Tanggal Lahir : Lamongan, 03 April 2003
Institusi : Prodi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan
Pendidika Universitas Muhammadiyah Lamongan

Menyatakan bahwa skripsi saya yang berjudul ” *Karakterisasi Bakteri Plant Growth Promoting Rhizobacteria (Pgpr) Dari Rizosfer Bambusa Spinosa Roxburgh Sebagai Penghasil Auksin, Penambat Nitrogen, Dan Pelarut Fosfat.* “ adalah bukan skripsi orang lain baik sebagian maupun keseluruhan, kecuali dalam bentuk kutipan yang sudah disebutkan sumbernya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya, dan apabila pernyataan ini tidak benar, saya bersedia mendapatkan sanksi akademik.

Lamongan ,14 Agustus 2025

Rieke Dwi Ayuni
NIM.21203020024

LEMBAR PERSETUJUAN

KARAKTERISASI BAKTERI *PLANT GROWTH PROMOTING RHIZOBACTERIA* (PGPR) DARI RIZOSFER *Bambusa spinosa* Roxburgh SEBAGAI PENGHASIL AUKSIN, PENAMBAT NITROGEN, DAN PELARUT FOSFAT.

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains
Bidang Biologi pada Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Lamongan

Rieke Dwi Ayuni
NIM 2103020024

Disetujui oleh:

Pembimbing I

Pembimbing II

M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si.
NPP. 19910427 202009 176

Dr. Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc.
NPP. 19920118 201909 120

LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI

Judul : Karakterisasi Bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dari Rizosfer *Bambusa spinosa* Roxburgh Sebagai Penghasil Auksin, Penambat Nitrogen, dan Pelarut Fosfat.

Penyusun : Rieke Dwi Ayuni

NIM : 2103020024

Tanggal Seminar : 14 Juli 2025

Telah Diuji dan Disetujui oleh Tim Penguji pada Ujian Sidang Skripsi di Prodi S1 Biologi Falkutas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas

Muhammadiyah Lamongan

Tanggal : 14 Juli 2025

Penguji I

Penguji II

M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si.
NPP. 19910427 202009 176

Dr. Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc.
NPP. 19920118 201909 120

Penguji III,

Muhammad Badrut Tamam, S.Pd., M.Sc.
NPP. 19841209 201903 098

Mengetahui,
Dekan

Falkutas Sains Teknologi dan Pendidikan
Universitas Muhammadiyah Lamongan

Eko Handoyo, S.Kom., M.Kom.
NPP. 19910217 201905 105

LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI

Skripsi ini tidak dipublikasikan, namun tersedia di perpustakaan dalam lingkungan Universitas Muhammadiyah Lamongan diperkenankan untuk dipakai sebagai referensi kepustakaan, tetapi pengutipan harus seizin penyusun dan harus menyebutkan sumbernya sesuai kebiasaan ilmiah. Dokumen skripsi ini merupakan hak milik Universitas Muhammadiyah Lamongan.



KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul "Karakterisasi Bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dari Rizosfer *Bambusa spinosa* Roxburgh Sebagai Penghasil Auksin, Penambat Nitrogen, dan Pelarut Fosfat." sesuai waktu yang ditentukan. Skripsi ini penulis susun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh sarjana biologi di Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.

Dalam penyusunan, penulis mendapatkan banyak pengarahan dan bantuan dari berbagai pihak, untuk itu penulis tidak lupa mengucapkan terima kasih kepada yang terhormat Bapak/ Ibu :

1. Prof. Dr. Aziz Alimul Hidayat, S.Kep., Ns., M.Kep, selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Lamongan.
2. Prof. Eko Handoyo, S.Kom., M.Kom selaku Dekan Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan.
3. M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si., selaku Ka-Prodi S1 Biologi Fakultas Sains Teknologi dan Pendidikan Universitas Muhammadiyah Lamongan
4. M. Ainul Mahbubillah, S.Si., M.Si., selaku pembimbing I, yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dorongan moril selama penyusunan proposal ini.
5. Dr. Rofiatun Solekha, S.Pd., M.Sc., selaku pembimbing II, yang telah banyak memberikan petunjuk, saran, dorongan moril selama penyusunan proposal ini.
6. Muhammad Badrut Tamam, S.Pd, M.Sc., selaku penguji III, yang telah banyak memberikan saran dan masukan selama penyusunan proposal ini.

Semua pihak yang telah memberikan dukungan moril dan materil demi terselesaikannya sidang skripsi ini. Semoga Allah SWT memberi balasan pahala atas semua amal kebaikan yang diberikan. Penulis menyadari skripsi ini masih banyak kekurangan, untuk itu segala kritik dan saran yang bersifat membangun

sangat penulis harapkan, akhirnya penulis berharap semoga skripsi ini bermanfaat bagi penulis pada khususnya dan bagi semua pembaca Pada umumnya

Lamongan, 14 Juli 2025
Penyusun,

Rieke Dwi Ayuni



ABSTRAK

Penggunaan pupuk sintetis berlebihan dalam pertanian modern telah menyebabkan degradasi lahan dan pencemaran lingkungan, serta menurunkan kualitas lahan pertanian. Kondisi ini mendorong pencarian alternatif ramah lingkungan, seperti pemanfaatan *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). PGPR, yang berasosiasi dengan perakaran tumbuhan, mampu meningkatkan pertumbuhan dan kesehatan tumbuhan melalui produksi hormon tumbuh, penambatan nitrogen, dan pelarutan fosfat. Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas bakteri penghasil auksin, penambat nitrogen, dan pelarut fosfat pada PGPR yang diisolasi dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh), spesies yang toleran terhadap kondisi tanah marginal. Metode penelitian meliputi isolasi dan karakterisasi enam isolat bakteri (K1, K2, K3, K4, K5, K6), uji produksi *Indole Acetic Acid* (IAA), uji penambatan nitrogen menggunakan media *Nitrogen-Free bacteria* (NFB), serta uji pelarutan fosfat dengan media Pikovskaya. Hasil menunjukkan keragaman karakteristik morfologi dan biokimia isolat. Isolat K1 menghasilkan IAA tertinggi (1.275,61 ppm) dan merupakan penambat nitrogen terbaik (3,18 ppm), keduanya dengan perbedaan signifikan ($p < 0,05$). Semua isolat mampu melarutkan fosfat, meskipun tanpa perbedaan signifikan ($p > 0,05$). Temuan ini mendukung peran PGPR dalam menyediakan nutrisi bagi tumbuhan, mengidentifikasi isolat K1 dan K4 sebagai paling potensial, dan berkontribusi pada pengembangan biofertilizer lokal untuk lahan marginal. Uji lapangan diperlukan untuk validasi efektivitas.

Kata kunci: auksin, bakteri penambat nitrogen, *Bambusa spinosa*, pelarut fosfat, PGPR.

ABSTRACT

The excessive use of synthetic fertilizers in modern agriculture has led to land degradation, environmental pollution, and a decline in agricultural land quality. This situation has prompted the search for environmentally friendly alternatives, such as the utilization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR). PGPR, associated with plant roots, can enhance plant growth and health through the production of growth hormones, nitrogen fixation, and phosphate solubilization. This study aimed to evaluate the activity of auxin-producing, nitrogen-fixing, and phosphate-solubilizing bacteria within PGPR isolated from the rhizosphere of bamboo (*Bambusa spinosa* Roxburgh), a species known for its tolerance to marginal soil conditions. The research methods included the isolation and characterization of six bacterial isolates (K1, K2, K3, K4, K5, K6), Indole Acetic Acid (IAA) production assays, nitrogen fixation tests using Nitrogen-Free Bromothymol Blue (NFB) media, and phosphate solubilization assays with Pikovskaya media. The results revealed diverse morphological and biochemical characteristics among the isolates. Isolate K1 produced the highest IAA (1.275.61 ppm) and was the best nitrogen fixer (3,18 ppm), both showing significant differences ($p < 0.05$). All isolates were capable of solubilizing phosphate, although no significant differences were found among them ($p > 0.05$). These findings support the role of PGPR in providing nutrients for plants, identify isolates K1 and K4 as the most potential, and contribute to the development of local biofertilizers for marginal lands. Field tests are necessary to validate their effectiveness.

Keywords: auxin, *Bambusa spinosa*, nitrogen-fixing, phosphate-solubilizing bacteria, PGPR.

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR JUDUL	i
LEMBAR PERNYATAAN	ii
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN NASKAH SKRIPSI.....	iv
LEMBAR PEDOMAN PENGGUNAAN SKRIPSI.....	v
KATA PENGANTAR.....	vi
ABSTRAK	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.4.1 Bagi Akedemis	4
1.4.2 Bagi Praktis, penelitian ini akan bermanfaat bagi:.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tumbuhan Bambu.....	6
2.1.1 Klasifikasi	6
2.1.2 Morfologi Bambu.....	6
2.2 Daerah Rizosfer.....	7
2.3 <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR).....	9
2.3.1 Definisi	9
2.4 Peran PGPR	10
2.4.1 Auksin	11
2.4.2 Penambat Nitrogen.....	14

2.4.3 Bakteri Pelarut Fosfat.....	18
BAB III METODE PENELITIAN.....	20
3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian.....	20
3.2 Alat dan Bahan	20
3.3 Metode.....	20
3.3.1 Isolasi Bakteri Rizosfer Akar Bambu.....	20
3.3.2 Pemurnian Isolat PGPR	21
3.3.3 Identifikasi Koloni secara Makroskopis	21
3.3.4 Pewarnaan Gram	21
3.3.5 Uji Katalase.....	21
3.3.6 Uji Endospora	22
3.3.7 Uji Aktivitas Penghasil Auksin	22
3.3.8 Uji Penambat Nitrogen.....	23
3.3.9 Uji Pelarut Fosfat	25
3.3 VARIABEL PENELITIAN	25
3.4.1 Variabel Bebas	25
3.4.2 Variabel Terkendali	26
3.4.3 Variabel Terikat.....	26
3.4 Analisis Data	26
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Hasil Penelitian	27
4.1.1 Hasil Uji Karakteristik Isolat	27
4.1.2 Hasil Bakteri Penghasil Auksin (IAA).....	28
4.1.3 Hasil Uji Penambat Nitrogen	29
4.1.4 Hasil Uji Pelarut Fosfat.....	31
4.1.5 Hasil Uji Kemampuan Bakteri	32
4.2 Pembahasan	33
4.2.1 Karakteristik Isolat	33
4.2.2 Uji Bakteri Penghasil Auksin (IAA)	35
4.2.3 Uji Penambat Nitrogen.....	37
4.2.4 Uji Pelarut Fosfat	38

4.2.5 Kemampuan Aktivitas Bakteri	39
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	44
5.1 Simpulan	44
5.2 Saran.....	44
DAFTAR PUSTAKA	46



DAFTAR TABEL

Nomor	Judul Tabel	Halaman
4.1	Hasil Karakterisasi Isolate Bakteri Rizosfer Akar Bambu	27
4.2	Karakterisasi Morfologi Koloni	27

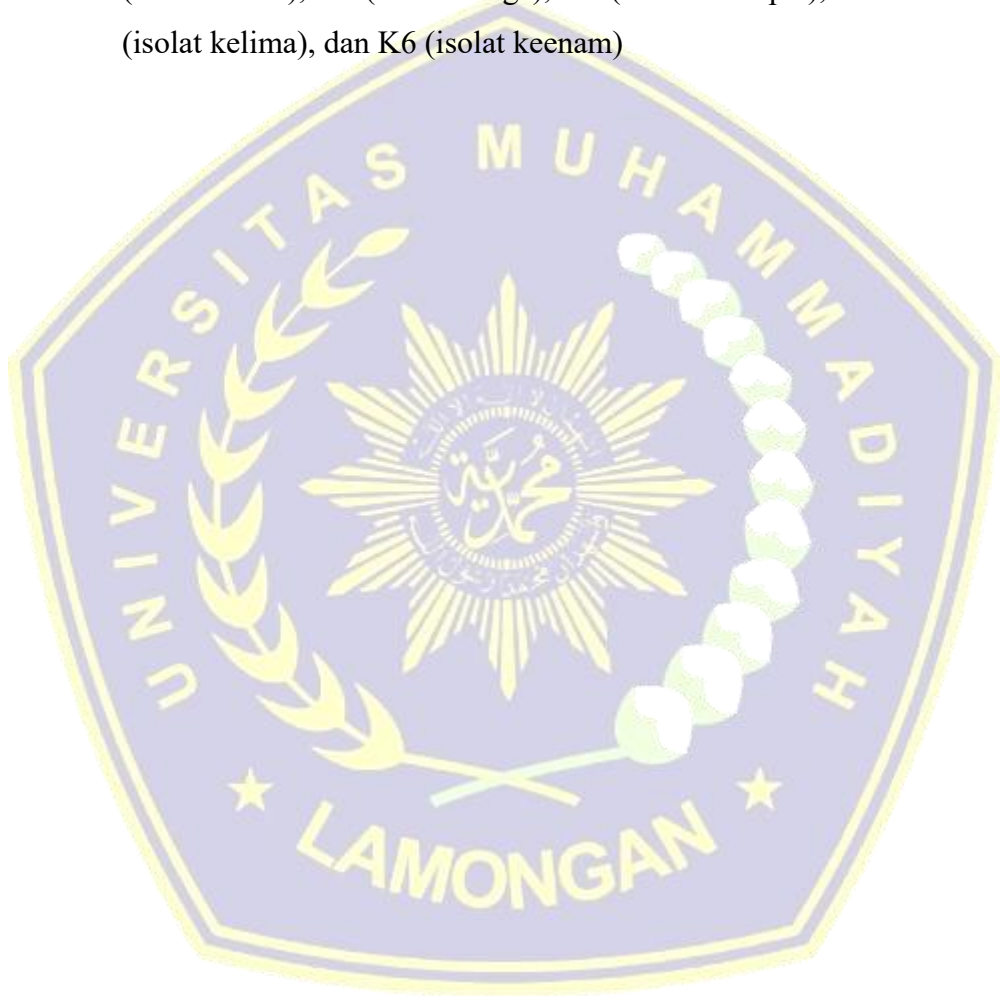


DAFTAR GAMBAR

Nomor	Judul Gambar	Halaman
2.1	Morfologi akar bambu a) akar parkimorf dan b) akar leptomorf (Sumber: Widjaja, 2018)	7
2.2	Gambaran Rizosfer Akar dan Bakteri PGPR (Goswami & Deka, 2020)	9
2.3	Mekanisme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dalam Mempengaruhi Kesuburan Akar Tumbuhan dan Pertumbuhan Tumbuhan (Morerira, 2024)	11
2.4	Struktur Molekul IAA	12
2.5	Berbagai Jalur Biosintesis Auksin pada Mikroorganisme. Diagram ini Mengilustrasikan Jalur Biosintesis yang Bergantung pada Triptofan dan yang Tidak Bergantung pada Triptofan (Olanrewaju <i>et al.</i> , 2017)	13
2.6	Siklus Nitrogen di Alam (Soumare <i>et al.</i> , 2020)	14
2.7	Bakteri Penambat Nitrogen yang Bersimbiosis (berwarna merah) dan Non-simbiosis (berwarna kuning) (Soumare <i>et al.</i> , 2022)	16
2.8	Skema Mekanisme Penambat Nitrogen oleh Bakteri Penambat Nitrogen Simbiosis dan Non-simbiosis (Smercina <i>et al.</i> , 2019)	17
4.1	Gambar 4.1 Grafik menunjukkan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam) pada waktu inkubasi 0 jam, 24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Konsentrasi IAA tertinggi ditemukan pada inkubasi 24 jam untuk isolat K1	28
4.2	Konsentrasi penambatan nitrogen pada isolat bakteri. Data disajikan dalam mean $\pm$ SD. Simbol huruf dan * menunjukkan signifikansi $p < 0,05$. Diberi kode isolat	30

bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam)

- 4.3 Grafik Uji Pelarut Fosfat dengan IPF. Data disajikan dalam mean $\pm$ SD. Simbol huruf dan * menunjukkan signifikansi $p < 0,05$. Diberi kode isolat bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam) 31



DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Judul Tabel	Halaman
1	Jadwal Kegiatan	59
2	Skema Kerja	60
3.1	Hasil Krakterisasi Isolat	61
3.2	Tabel Kurva Standar Indole Acetid Acid (IAA) pada panjang gelombang 530 nm	62
3.3	Kurva Standar Indole Acetid Acid (IAA) dengan persamaan $y = ax - b$	63
3.4	Tabel Pengamatan Seleksi Bakteri Penghasil IAA	64
3.5	Tabel Kurva Standar NH_4Cl (Penambat Nitrogen) pada panjang gelombang 420 nm	65
3.6	Kurva Standar NH_4Cl (Penambat Nitrogen) $y = ax - b$	66
3.7	Tabel Pengamatan Seleksi Bakteri Penghasil Penambat Nitrogen	67
3.8	Tabel Pengamatan Uji Pelarut Fosfat	68
3.9	Penomoran dan Penandaan	69
4.1	Dokumentasi Makroskopik	70
4.2	Dokumentasi Perwarnaan Gram	70
4.3	Dokumentasi Uji Endospora	70
4.4	Dokumentasi Uji Katalase	71
4.5	Dokumentasi Hasil Perubahan Warna Uji Kemampuan Penghasil IAA	72
4.6	Dokumentasi Hasil Perubahan Warna Uji Penambat Nitrogen	76
4.7	Dokumentasi Indeks Pelarut Fosfat	78
5.1	Analisis Data One Way annova IAA	79
5.2	Uji Lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) IAA	82

5.3	Analisis Data One Way annova Nitrogen	83
5.4	Analisis Data One Way annova Fosfat	84



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia dikenal sebagai negara agraris, di mana sebagian besar penduduknya bekerja di sektor pertanian. Penggunaan pupuk dalam praktik pertanian di Indonesia menjadi isu krusial karena perannya dalam meningkatkan produktivitas tumbuhan serta dampaknya terhadap lingkungan. Baik pupuk organik maupun anorganik berkontribusi signifikan terhadap pertumbuhan tumbuhan dan hasil panen. Namun, penggunaan pupuk sintetis yang berlebihan dapat menyebabkan berbagai masalah, seperti degradasi lahan dan pencemaran lingkungan (Amrullah *et al.*, 2021). Selain itu, keterbatasan sumber pangan masih menjadi tantangan akibat menurunnya kualitas lahan pertanian, yang sebagian besar disebabkan oleh penggunaan pupuk kimia secara intensif.

Penggunaan pupuk kimia secara berlebihan berdampak negatif pada kesuburan tanah dan keseimbangan ekosistem mikroba. Idealnya, pupuk harus efektif dalam menyediakan nutrisi bagi tumbuhan dan tidak merusak lingkungan. Namun, kenyataannya pupuk kimia sering kali mengganggu mikroflora tanah, yang pada akhirnya berdampak buruk pada kesuburan tanah dan hasil tumbuhan (Shen *et al.*, 2022). Sebagai solusi, penggunaan pupuk organik menjadi alternatif yang lebih ramah lingkungan karena mampu memperbaiki kandungan unsur hara makro dan mikro serta struktur tanah, sehingga dapat mengurangi dampak negatif dari pupuk anorganik (Chennappa *et al.*, 2018; Fatimah *et al.*, 2022).

Pupuk organik mempunyai unsur hara makro dengan kandungan Nitrogen (N), Fosfor (P) dan Kalium (K). Dan unsur hara mikro, seperti besi (Fe), mangan (Mn), dan seng (Zn) keduanya merupakan nutrisi penting yang dibutuhkan tumbuhan dalam jumlah kecil dan harus tersedia di lahan pertanian (Bahri *et al.*, 2020). Pupuk organik tersedia dalam bentuk padat dan cair. Pupuk organik cair (POC) lebih mudah diserap tumbuhan dan berfungsi meningkatkan pembentukan klorofil dan bintil akar pada tumbuhan polong-polongan serta kaya akan kalium yang penting untuk kelangsungan hidup tumbuhan (Bachtiar *et al.*, 2018).

Pembuatan pupuk organik dapat menggunakan beberapa mikroorganisme yang berfungsi untuk mempercepat proses pembuatan pupuk organik cair (POC). Contoh POC yang dapat digunakan yaitu Mikroorganisme lokal air dari cucian beras (air leri), larutan yang mengandung banyak bakteri menguntungkan (EM4) dan PGPR (Kusuma, 2013).

PGPR adalah kelompok bakteri tanah yang berasosiasi daerah perakaran tumbuhan (rizosfer). PGPR mampu mendukung pertumbuhan dan kesehatan tumbuhan termasuk meningkatkan produktivitas tumbuhan. Beberapa mekanisme PGPR dalam memacu pertumbuhan dan kesehatan tumbuhan antara lain produksi hormon tumbuh menghasilkan hormon tumbuhan (IAA, penambat nitrogen, pelarut fosfat, peningkatan unsur hara (Shailendra Singh, 2015; Mehmood *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2016). Peningkatan pengambilan unsur hara oleh tumbuhan, toleransi terhadap cekaman abiotik, dan pertahanan terhadap fitopatogen (Al Banna & Arifuddin, 2021).

Nitrogen untuk tumbuhan berasal dari bakteri yang mengikat nitrogen bebas (N_2) dan mengubahnya menjadi amonia (NH_3), sehingga dapat diserap. Nitrogen adalah unsur hara makro yang penting untuk metabolisme protein, reaksi metabolisme, dan struktur sel tumbuhan (Madigan *et al.*, 2019). Bakteri pemacu pertumbuhan tumbuhan (PGPR) menghasilkan hormon IAA, yang membantu pembesaran sel, perkembangan akar, dan pembentukan jaringan tumbuhan (Kurniati, 2018). Bakteri seperti *Bacillus megaterium*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Stenotrophomonas maltophilia* diketahui mampu menghasilkan IAA (Aziz & Nazir, 2015; Parvin *et al.*, 2015; Patel & Saraf, 2017; Li *et al.*, 2018). Prosesnya melibatkan pengubahan triptofan menjadi IAA melalui beberapa reaksi enzimatik.

Selain itu, PGPR berperan dalam melarutkan fosfat yang terikat di tanah melalui produksi asam organik seperti asam sitrat, glutamat, dan suksinat, sehingga fosfat menjadi tersedia bagi tumbuhan (Pane, 2022). Akar bambu menjadi habitat potensial bagi PGPR, termasuk *Pseudomonas fluorescens* yang mampu meningkatkan kelarutan fosfat dan melindungi tumbuhan dari patogen (Pratiwi, 2017). Bakteri pelarut fosfat juga menghasilkan asam organik seperti asam sitrat, asam glutamat dan asam suksinat serta bereaksi dengan unsur Al^{2+} atau Fe^{2+}

yang menghasilkan senyawa kompleks yang stabil serta melepaskan ion fosfat yang terikat menjadi tersedia bagi tumbuhan (Yulistiana *et al.*, 2020).

Penggunaan PGPR berbasis bahan alami seperti akar putri malu, air kelapa, dan akar bambu terbukti efektif (Manurung *et al.*, 2023). Akar bambu mengandung enzim lignoselulase. Bakteri yang terdapat di titik eksudat akar bambu yaitu *Pseudomonas fluorescens* digunakan sebagai penghasil asam salisilat dan fitoaleksin dengan cara mengkolonisasi akar sehingga mampu menginduksi ketahanan tumbuhan (Hartono *et al.*, 2021). Selain itu, juga terdapat bakteri dari genus *Bacillus* yang terdapat di akar bambu (Susanti *et al.*, 2015; Sholihah, 2016; Mehmood *et al.*, 2018).

Penelitian sebelumnya juga berhasil mengidentifikasi 80 konsorsium bakteri endofit dari berbagai tumbuhan, seperti bambu (*Bambusa bambos*), Sebanyak 17 konsorsium bakteri endofit tersebut diketahui aman bagi tumbuhan dan mamalia, serta memiliki kemampuan memproduksi enzim kitinase, enzim protease, HCN, melarutkan fosfat (P), dan menambat nitrogen (N) (Ankardiansyah *et al.*, 2016). Penelitian lainnya pada jenis bambu lain (*Bambusa blumeana*) menemukan enam spesies bakteri yang berperan dalam produksi hormon, pergantian nutrisi, dan bertindak sebagai agen PGPR (Hardiansyah, 2020). Oleh karena itu, bambu perakaran diduga memiliki sistem yang mampu memacu pertumbuhan, yang terlihat pada bambu jenis (*Gigantochloa apus*), yang menghasilkan isolasi bakteri sebanyak tiga spesies dengan manfaat fiksasi nitrogen (N) dan penekanan pathogen (Kaushal *et al.*, 2020). Penelitian lebih lanjut pada bambu berkayu (*Cephalostachyum pingbianense*) menemukan 12 konsorsium bakteri endofit yang berperan dalam meningkatkan fiksasi nitrogen (N) dan degradasi karbohidrat (Li *et al.*, 2022).

Namun, meskipun banyak penelitian yang telah dilakukan pada berbagai jenis bambu, penelitian mengenai PGPR dari akar *Bambusa spinosa* Roxburgh masih terbatas. Spesies bambu ini tumbuh di berbagai kondisi tanah, termasuk tanah miskin nutrisi (Kumari, 2017), sehingga rizosfernya potensial sebagai habitat mikroorganisme yang toleran terhadap stres lingkungan. Isolasi dan karakterisasi PGPR dari *Bambusa spinosa* Roxburgh berpotensi menemukan strain bakteri yang

lebih tahan terhadap kondisi ekstrem dan efektif sebagai agen biokontrol terhadap patogen.

Oleh karena itu, isolasi dan karakterisasi PGPR akar dari *Bambusa spinosa* Roxburgh dapat memberikan peluang untuk menemukan strain bakteri yang lebih resisten terhadap kondisi lingkungan ekstrem dan efektif sebagai agen biokontrol spesifik terhadap patogen tertentu.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah:

- 1) Bagaimana karakteristik koloni bakteri PGPR yang diisolasi dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh)?
- 2) Apakah bakteri PGPR dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) menghasilkan kemampuan penghasil auksin, penambat nitrogen dan pelarut fosfat?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

- 1) Mengetahui karakteristik koloni bakteri PGPR yang diisolasi dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh)
- 2) Mengetahui bakteri PGPR dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) menghasilkan kemampuan penghasil auksin, penambat nitrogen dan pelarut fosfat

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi Akademis

Penelitian ini berkontribusi dalam menambah pengetahuan di bidang mikrobiologi pertanian terkait pemanfaatan (PGPR) sebagai agen pemupukan hayati. Mengasah keterampilan riset seperti isolasi bakteri.

1.4.2 Bagi Praktis, penelitian ini akan bermanfaat bagi:

1. Bagi Institusi

Penelitian dapat dimanfaatkan oleh petani untuk menggunakan bakteri PGPR dari akar bambu yang meningkatkan pertumbuhan tumbuhan secara alami, mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia.

2. Bagi Penulis

Penelitian ini menambah wawasan penulis, sehingga mengetahui uji karakter dan kemampuan produksi penghasil auksin, penambat nitrogen dan pelarut fosfat pada (PGPR) dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh)

3. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat bahwa penelitian penggunaan PGPR sebagai biofertilizer meningkatkan produktivitas tumbuhan secara alami sebagai inovasi dalam bidang pertanian



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tumbuhan Bambu

2.1.1 Klasifikasi

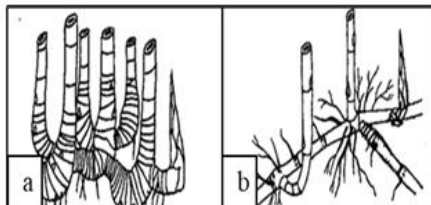
Tumbuhan bambu tergolong Suku Poaceae. Tumbuhan bambu berupa rumpun dan dapat pula bambu tumbuh sebagai batang soliter atau perdu. Adapun klasifikasi bambu secara umum yaitu menurut (Roxburgh)

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Kelas : Equisetopsida
Bangsa : Poales
Suku : Poaceae
Marga : *Bambusa*
Jenis : *Bambusa spinosa* Roxburgh

2.1.2 Morfologi Bambu

Bambu merupakan tumbuhan herba memiliki morfologi yang ditandai dengan tumbuh berumpun, akar serabut, adanya ruas-ruas pada batang, dan daun berkelopak, serta pertulangan daun sejajar (Santi *et al.*, 2019). Sistem perakaran bambu dikenal sebagai akar rimpang (*rhizome*). Rimpang ini terletak di bawah permukaan tanah dan memiliki tipe percabangan yang menjadi ciri pembeda antar jenis bambu. Menurut (Widjaja, 2018), terdapat dua sistem percabangan rimpang pada bambu, Pakimorf (Sympodial) dicirikan oleh rimpang yang pendek dan tebal, tumbuh melengkung ke atas membentuk *culm* baru di dekat *culm* induk (Darwis & Iswanto, 2018). Sistem ini menghasilkan rumpun bambu yang padat. Leptomorf (Monopodial) dicirikan oleh rimpang yang panjang dan ramping, tumbuh menyebar secara horizontal di bawah tanah sebelum membentuk *culm* baru pada jarak tertentu dari *culm* induk (Schoch & Sues, 2018). Sistem ini menghasilkan pertumbuhan bambu yang lebih menyebar atau soliter. Percabangan akar rimpang ditandai

dengan ukuran panjang atau pendek leher dan ruas pada akar rimpang dapat membedakan jenis (Sary *et al.*, 2018).



Gambar 2.1 Morfologi akar bambu a) akar Pakimorf dan b) akar leptomorf (Sumber: Widjaja, 2018)

Bambu dapat tumbuh dengan baik pada berbagai jenis tanah pada ketinggian 0-2000 m di atas permukaan laut (dpl). Bahkan, bambu dapat tumbuh pada tanah marginal yang kurang subur sekalipun (Zea escamilla *et al.*, 2019). Bambu termasuk jenis tumbuhan yang memiliki pertumbuhan sangat cepat. Dalam waktu sekitar 3 tahun sejak ditanam, sebatang bambu sudah dapat membentuk rumpun yang sangat rapat (Andoko, 2003). Menurut dalam (Yani, 2012) pertumbuhan bambu tidak terlepas dari pengaruh kondisi lingkungan tempat tumbuh. Adapun faktor-faktor lingkungan yang berkaitan dengan syarat tumbuh bambu yaitu tanah dengan pH 5,6 – 6,5, ketinggian tempat 0 – 2000 m dpl, suhu 8,8 - 36°C, curah hujan tahunan minimal 1.020 mm, dan kelembaban 80%. Bambu dapat tumbuh pada tanah yang bereaksi masam dengan pH 3,5 dan umumnya menghendaki tanah yang pH nya 5,0 sampai 6,5. Pada tanah yang subur, tumbuhan bambu akan tumbuh dengan baik karena kebutuhan makanan bagi tumbuhan tersebut akan terpenuhi (Aziza, 2022).

2.2 Daerah Rizosfer

Rizosfer merupakan daerah di sekitar akar tumbuhan, merupakan tempat berkumpulnya beberapa mikroflora tanah baik yang menguntungkan dan berbahaya. Eksudat akar, yang mengandung gula, asam amino, dan nutrisi lain, memikat mikroflora ini secara kimiawi (Glick, 2012). Populasi mikroorganisme di rizosfer umumnya lebih banyak dan beragam dibandingkan pada tanah non rizosfer. Aktivitas mikroorganisme rizosfer dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh perakaran tumbuhan. Beberapa mikroorganisme rizosfer berperan dalam siklus hara

dan proses pembentukan tanah, pertumbuhan tumbuhan, mempengaruhi aktivitas mikroorganisme, serta sebagai pengendali hayati (Putra *et al.*, 2020).

Bakteri rizosfer banyak ditemukan yaitu kelompok *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Arthrobacter*, *Rhizobia*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Mycobacterium*, *Flavobacter*, *Cellulomonas* dan *Micrococcus*. Strain bakteri dominan di rizosfer termasuk Gram-negatif, berbentuk batang, non-bersporulasi. Kelompok *Actinobacteria* dan *Pseudomonas* adalah yang paling melimpah, hal ini disebabkan efisiensi bakteri Gram negatif dalam memanfaatkan eksudat akar dan karena dirangsang oleh *rhizodepositio* sedangkan Gram positif agak terhambat (Lengkong *et al.*, 2022)

Meskipun demikian, bakteri aerobik obligat mungkin relatif lebih sedikit ditemukan di beberapa mikrohabitat rizosfer yang memiliki tingkat oksigen rendah. Sementara itu, kelompok *Bacillus* dapat ditemukan di rizosfer, namun keberadaannya mungkin tidak selalu dominan dibandingkan kelompok lain, terutama karena kemampuannya membentuk endospora yang memungkinkan mereka bertahan dalam kondisi lingkungan yang kurang menguntungkan, serta potensi mereka menghasilkan senyawa antimikroba yang dapat memengaruhi komunitas mikroba di sekitarnya (Steer dan Harris, 2000).

Beberapa studi mendokumentasikan perubahan populasi mikroba rizosfer sebagai respon terhadap kekeringan, temperatur, CO₂, dan lain- lain (Rasmussen *et al.*, 2019 dalam (Ai & Ludong, 2023). Peningkatan populasi mikroba berperan penting dalam aklimatisasi sebagian besar tumbuhan pada kondisi tercekam (Hu *et al.*, 2018). Eksudat akar sangat mempengaruhi komunitas mikroba rizosfer pada kondisi lingkungan tercekam dan analisis mikrobioma akar dapat menunjukkan fungsi ekosistem (Williams & de Vries, 2020). Oleh sebab itu eksplorasi mikrobioma dilakukan untuk mencari populasi mikroba baru yang dapat menguntungkan untuk meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan seiring dengan perubahan iklim.

Gambar (Gambar 2.2) adalah sekelompok bakteri tanah yang menghuni sekitar/ pada permukaan akar dan secara langsung atau tidak langsung terlibat dalam memacu pertumbuhan dan perkembangan tumbuhan melalui produksi dan sekresi berbagai bahan kimia pengatur di sekitar rizosfer (Ahemad and Kibret 2014). Rizosfer adalah bagian tanah di mana lebih banyak terdapat bakteri di sekitar akar tumbuhan daripada tanah yang jauh dari akar tumbuhan (Cahyani *et al.* 2017). Beberapa genus PGPR antara lain: *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Burkholderia*, *Klebsiella*, *Variovorax*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, dan *Serratia*.

2.3.1 Definisi

Plant Growth-Promoting Rhizobacteria (PGPR) merupakan kelompok bakteri menguntungkan yang agresif dalam melakukan kolonisasi rizosfer yang sangat berguna bagi tumbuhan (Rahma *et al.*, 2021). Karakteristik morfologi dan biokimia PGPR sangat beragam, dan keragaman ini seringkali berkorelasi dengan kemampuan fungsionalnya. Kemampuannya dalam menyediakan dan memobilisasi atau memfasilitasi penyerapan berbagai unsur hara dalam tanah serta mensintesis serta mengubah konsentrasi fitohormon pemacu tumbuh yang dapat menekan

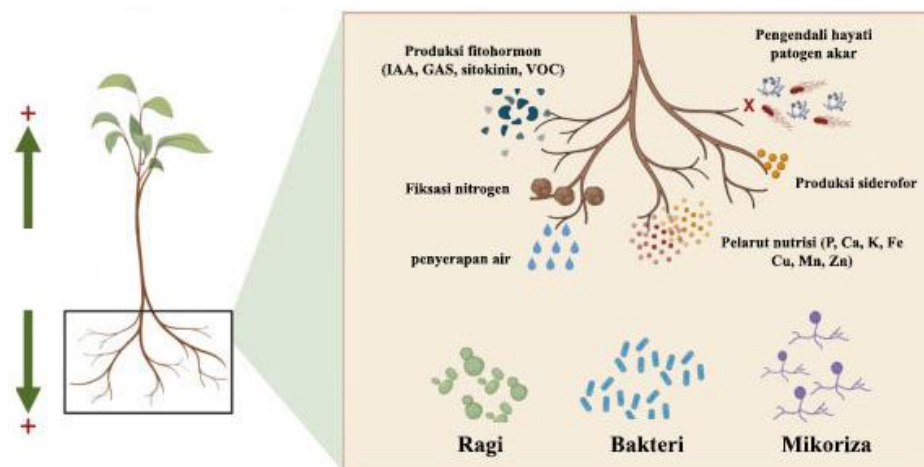
aktivitas patogen dengan cara menghasilkan senyawa atau metabolit seperti antibiotik dan siderophore (Lehar *et al.*, 2018).

Kemampuan PGPR sebagai agen pengendalian hayati karena kemampuannya bersaing untuk memperoleh makanan, bersifat antibiosis, sebagai hormon pertumbuhan tumbuhan serta ramah lingkungan (Constantia *et al.*, 2020). Oleh karena itu, PGPR sebagai pupuk hayati yang ramah lingkungan menjadi salah satu alternatif dalam menyediakan bakteri baik yang dapat merangsang pertumbuhan (biostimulan) dengan mensintesis dan mengatur konsentrasi berbagai pengatur zat tumbuh serta dapat memfasilitasi tersedianya unsur hara esensial, dan sebagai pengendali patogen tanah (bioprotektan) (Jannah *et al.*, 2022).

2.4 Peran PGPR

Aplikasi agen hayati merupakan salah satu alternatif yang dikembangkan dalam rangka peningkatan produksi tumbuhan dimana dapat memacu pertumbuhan tumbuhan dan berperan melalui mekanisme langsung atau tidak langsung dalam melakukan pengendalian penyakit untuk mempertahankan produktivitas tumbuhan (Tuhuteru *et al.*, 2019). Strain bakteri PGPR dapat meningkatkan pertumbuhan akar, meningkatkan diameter batang serta klorofil tumbuhan termasuk keunggulannya dalam aktivitas fiksasi nitrogen, aktivitas enzim antimikroba (selulase, kitinase dan protease) dan peningkatan IAA yang berdampak pada pertumbuhan tumbuhan (Ichwan *et al.*, 2021).

PGPR dapat menghasilkan zat pengatur tumbuhan (ZPT) yang merupakan senyawa penting dari pertumbuhan perakaran sampai pembentukan buah (Asfar *et al.*, 2022). PGPR mampu meningkatkan fiksasi nitrogen dari udara untuk ketersediaan nitrogen dalam tanah, melarutkan fosfat, menghasilkan osmoprotektan pada kondisi cekaman kekeringan dan penghasil osmolit tertentu yang dapat membunuh patogen tumbuhan (Fitri, 2020). Selain itu, pada gambar 2.3 tanah dengan ekologi mikroba dan bahan organik tinggi biasanya akan memiliki kebutuhan pupuk yang lebih rendah dibandingkan dengan tanah yang dikelola secara konvensional (Backer *et al.*, 2018).

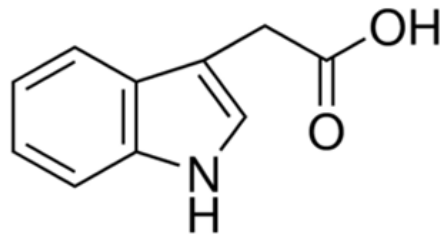


Gambar 2.3 Mekanisme Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dalam Mempengaruhi Kesuburan Akar Tumbuhan dan Pertumbuhan Tumbuhan (Moreira, 2024).

2.4.1 Auksin

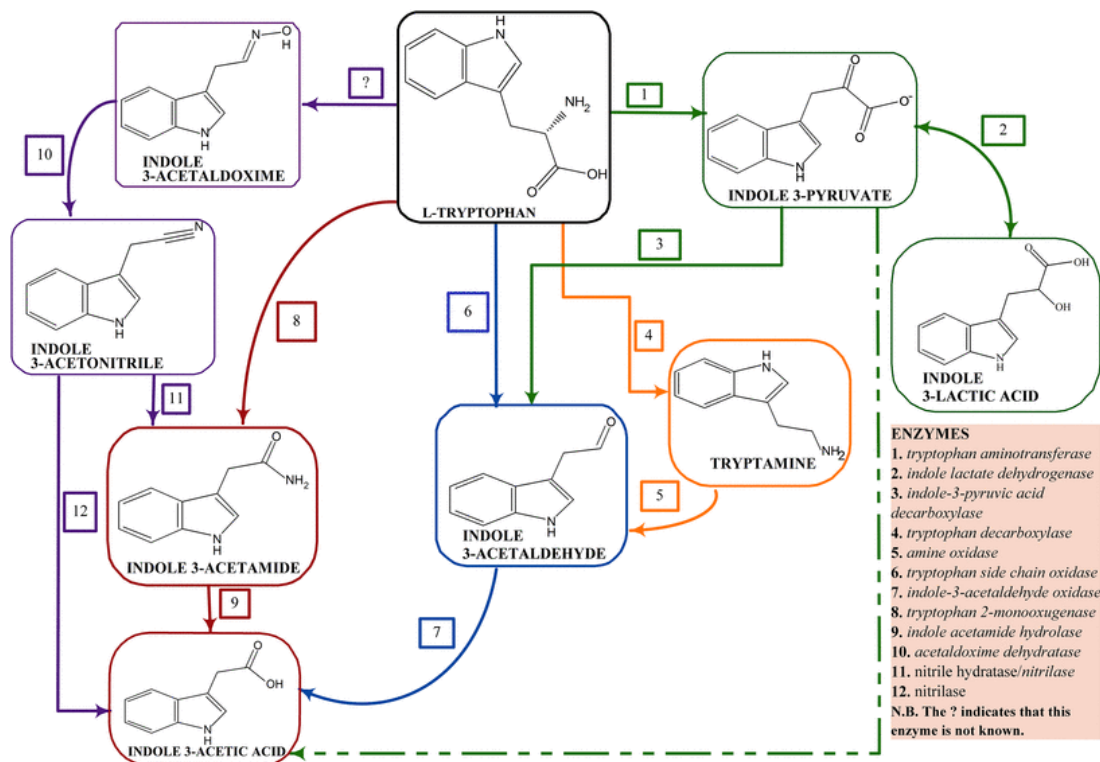
Indole Acetic Acid (IAA) merupakan salah satu auksin yang paling aktif secara fisiologis. IAA adalah produk paling umum dari metabolisme L-triptofan dari beberapa mikroorganisme. Produksi auksin oleh bakteri adalah salah satu mekanisme langsung terpenting yang digunakan oleh bakteri pemacu pertumbuhan tumbuhan (PGPR) untuk kemajuan tumbuhan secara alami karena auksin adalah metabolit sekunder ramah tumbuhan yang disintesis secara alami oleh bakteri, dan karenanya meningkatkan pertumbuhan tumbuhan (Wagi dan Ahmed, 2019).

Auksin merupakan kelompok senyawa kimia yang memiliki fungsi untuk pemanjangan kuncup yang sedang berkembang. Auksin dapat dihasilkan oleh tumbuhan secara alami, beberapa senyawa seperti IAA (*Indole Acetic Acid*), PAA (*Phenylacetic acid*), 4 chloro IAA (*4-chloroindole acetic acid*) dan IBA (*indolebutyric acid*) dan auksin sintetik, misalnya NAA (*naphthalene acetic acid*), 2,4 D (*2,4 dichlorophenoxyacetic acid*) dan MCPA (*2-methyl-4 chlorophenoxyacetic acid*) (Sumarni dan Sumiati, 2001).



Gambar 2.4 Struktur molekul IAA

Biosintesis IAA dari triptofan oleh mikroorganisme umumnya melibatkan tiga tahapan utama yaitu pertama, triptofan diubah menjadi asam indol piruvat melalui reaksi transaminasi, kedua, asam indol piruvat diubah menjadi indole acetaldehyde melalui reaksi dekarboksilasi, dan ketiga, proses oksidasi indole acetaldehyde yang menghasilkan IAA (Alfiansyah *et al.*, 2023). Gambar 2.5 lebih lanjut menunjukkan berbagai jalur biosintesis auksin, baik yang bergantung pada triptofan maupun yang tidak. Lingkaran putus-putus biru: sel mikroba; ujung runcing padat hitam: jalur sintesis mikroba IAA yang diketahui; ujung putus-putus hitam: jalur sintesis mikroba IAA yang tidak diketahui; bahan peledak: prekursor sintetis IAA; persegi: perantara sintetis IAA; heksagonal: IAA; bentuk oval: enzim terkait sintesis IAA; kuning: jalur TAM; biru: jalur IPA; hijau: jalur TSO; oranye: Jalur IAM; abu-abu: jalur IAN; dan ungu: jalur yang tidak bergantung pada triptofan.



Gambar 2.5 Berbagai Jalur Biosintesis Auksin pada Mikroorganisme. Diagram ini mengilustrasikan jalur biosintesis yang bergantung pada triptofan dan yang tidak bergantung pada triptofan. (Olanrewaju *et al.*, 2017)

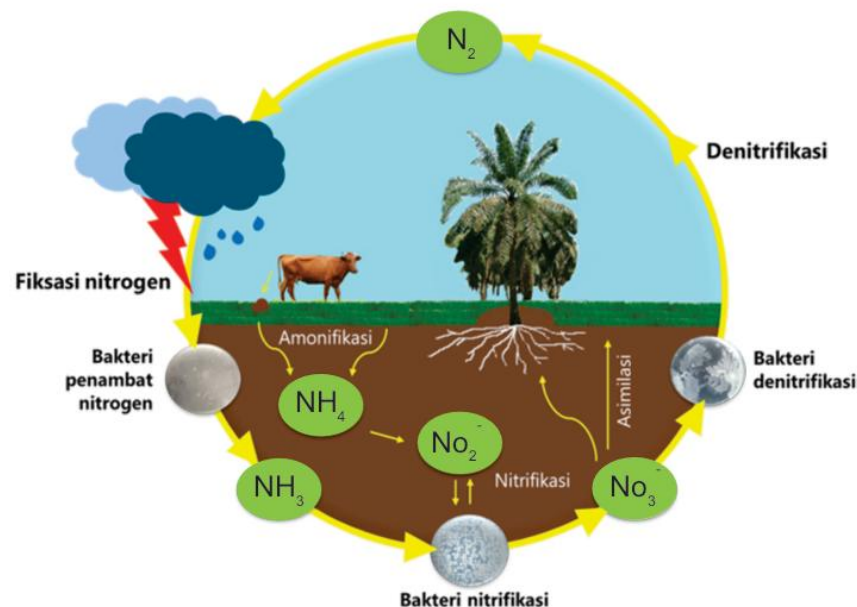
Bakteri yang dapat menghasilkan IAA meliputi *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Alcaligenes faecalis*, *Azoarcus*, dan *Serratia*, sebagaimana dijelaskan (Torres-Rubio *et al.*, 2000). Laporan lain juga disampaikan oleh (Ali *et al.*, 2009) yang menunjukkan bahwa kelompok bakteri *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Escherichia* dan *Staphylococcus* mampu meningkatkan kadar IAA endogen dan pertumbuhan tumbuhan *Triticum saetivum* var. Inqalab-91 (Khan *et al.*, 2018). menemukan bakteri *Bacillus subtilis* mampu memacu pertumbuhan dilihat dari parameter meningkatnya biomassa akar dan pucuk serta kandungan klorofil tumbuhan. Bakteri penghasil IAA yang berasosiasi secara endofit pada tumbuhan seperti penelitian yang dilakukan oleh (Chen *et al.*, 2017). Membuktikan bahwa bakteri *Pseudomonas fluorescens* dapat membantu pertumbuhan dan penyerapan cadmium oleh tumbuhan *Sedum alfredii*.

Bakteri rhizosfer yang dapat memacu pertumbuhan tumbuhan, menarik perhatian untuk dijadikan sebagai salah satu komponen pupuk hayati sehingga

aplikasinya diharapkan dapat memberikan kontribusi yang optimal bagi pertumbuhan tumbuhan secara organik. Kondisi fisiologis tertentu seperti, peningkatan osmotik sel, meningkatkan permeabilitas air ke dalam sel, penurunan tekanan dinding sel, peningkatan sintesis dinding sel dan menginduksi reaksi antarspesifik (RXA) spesifik dan sintesis protein. IAA juga memiliki kemampuan memicu aktivitas embial, menghambat atau menunda absisi daun, menyebabkan pembungaan dan pembuahan (Mohite, 2013).

2.4.2 Penambat Nitrogen

Nitrogen (N_2) merupakan unsur yang penting bagi makhluk hidup, khususnya tumbuhan. Unsur nitrogen termasuk salah satu komponen penyusun protein dan berperan dalam proses fotosintesis (Leghari *et al.*, 2016). Kandungan nitrogen di atmosfer sangat melimpah yaitu sekitar 78%, tetapi nitrogen tersebut dalam bentuk molekul yang sebagian besar tidak reaktif, sehingga tidak dapat diserap langsung oleh tumbuhan. Oleh karena itu, perlu transformasi nitrogen di udara menjadi bentuk molekul yang dapat diserap tumbuhan. Nitrogen hanya dapat diserap oleh tumbuhan dalam bentuk ion amonium (NH_4^+) atau ion nitrat (NO_3^+). Gas di nitrogen dari atmosfer diubah menjadi amonia (NH_3), kemudian difiksasi di dalam tanah melalui proses fiksasi (Martínez-Dalmau *et al.*, 2021).



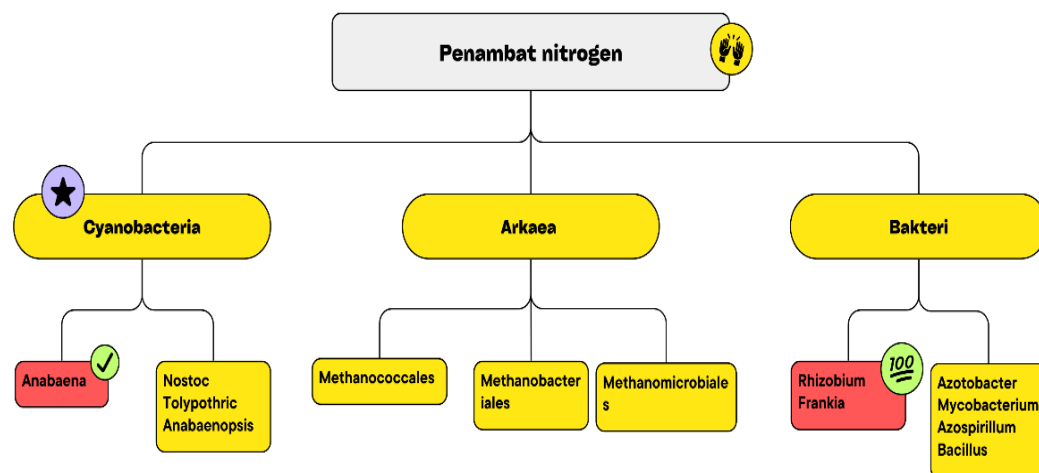
Gambar 2.6 Siklus Nitrogen di alam (Soumare *et al.*, 2020).

Secara umum, di alam terjadi perubahan bentuk nitrogen menjadi senyawa lainnya melalui siklus yang disebut dengan siklus nitrogen seperti gambar di atas (Gambar 2.6). Proses yang terjadi selama siklus nitrogen yaitu: (i) fiksasi nitrogen menjadi amonium dan nitrat secara fisika melalui petir, secara kimiawi melalui industri pupuk dan biologis oleh bakteri. (ii) Amonifikasi, pembentukan amonium atau dekomposisi (penguraian) organisme yang sudah mati oleh bakteri dan fungi; (iii) Nitrifikasi, perubahan amonia menjadi nitrit oleh bakteri *Nitrosomonas* dan nitrat oleh bakteri *Nitrobacter*; (iv) Asimilasi nitrogen yang telah tersedia dalam tanah, kemudian diserap oleh akar tumbuhan; dan (v) Denitrifikasi, proses reduksi nitrat menjadi gas nitrogen (Soumare *et al.*, 2020).

Fiksasi nitrogen melalui petir terjadi karena energi listrik yang dihasilkan oleh petir dapat memecah ikatan antar molekul N di atmosfer, selanjutnya bereaksi dengan oksigen (O) membentuk berbagai molekul stabil seperti oksida nitrat (NO), nitrogen dioksida (NO₂). Nitrogen oksida yang terbentuk bereaksi dengan udara di atmosfer untuk membentuk asam nitrat, lalu mencapai permukaan bumi dan menjadi pupuk alami. Kemudian ion nitrat dalam air dapat direduksi oleh zat organik menjadi nitrit, N₂ dan ion NH₄⁺ sehingga dapat diserap oleh tumbuhan.

Fiksasi nitrogen secara umum terbagi menjadi tiga cara, yaitu secara fisika melalui petir, secara kimiawi pada industri pembuatan pupuk, dan secara biologis. Fiksasi nitrogen secara biologis terjadi dengan menggunakan bakteri. Kebutuhan unsur nitrogen dapat dipenuhi oleh bakteri dari sumber nitrogen dalam berbagai senyawa organik maupun dari N₂ udara. Fiksasi nitrogen secara biologis bergantung pada serangkaian proses oleh bakteri dengan cara mengubah N₂ menjadi bentuk anorganik yang kemudian diserap tumbuhan. Bakteri tersebut dapat menambah nitrogen udara melalui non-simbiosis (*free living nitrogen-fixing bacteria*) dan simbiosis (*root nodulating bacteria*) dengan tumbuhan (Ayesha *et al.*, 2023). Penambahan nitrogen oleh bakteri memberikan keuntungan bagi tumbuhan, sehingga pada masa sekarang banyak dimanfaatkan untuk praktek pertanian, karena menjadi alternatif pengganti pupuk anorganik (Huslina *et al.*, 2019; Soumare *et al.*, 2020).

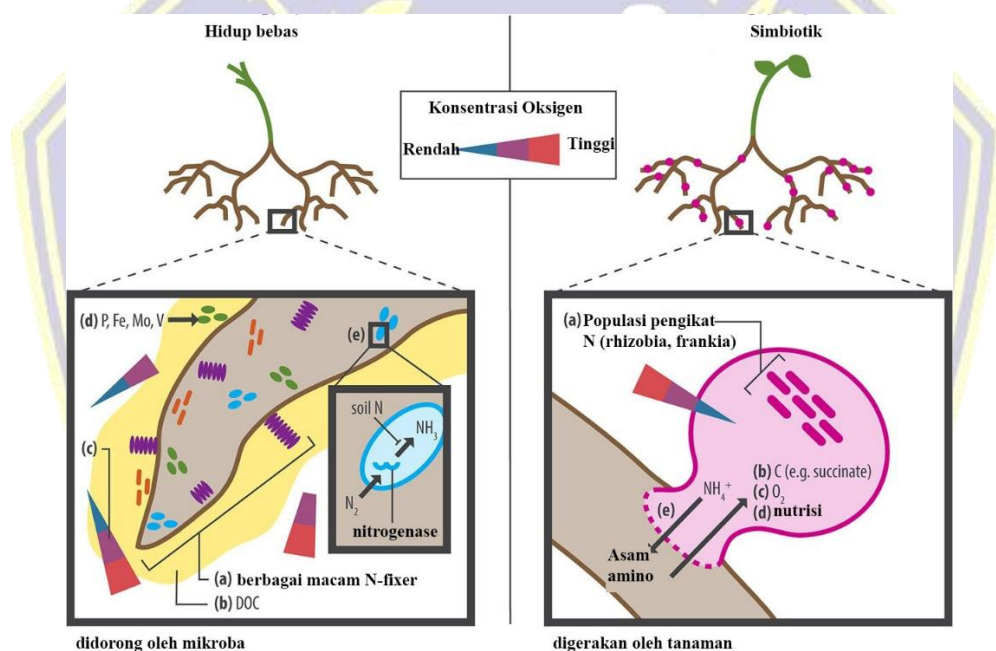
Nitrogen dalam tanah terdapat dalam dua bentuk utama: anorganik (2%) seperti amonia (NH_3), amonium (NH_4^+), serta organik (98%) yang berasal dari bahan organik seperti biota tanah, hewan, dan sisa tumbuhan. Nitrogen organik tidak langsung tersedia bagi tumbuhan dan perlu dikonversi menjadi amonium atau nitrat dengan bantuan bakteri penambat nitrogen. Bakteri ini dapat hidup bebas, seperti *Azotobacter*, *Bacillus*, *Clostridium*, dan *Klebsiella*, atau bersimbiosis membentuk bintil akar, seperti *Rhizobium*, *Frankia*, dan *Anabaena*. Beberapa bakteri, seperti *Azospirillum*, membentuk hubungan erat dengan tumbuhan famili Poaceae, seperti beras, jagung, dan gandum. Bakteri bersimbiosis memperoleh nutrisi dari eksudat akar yang mengandung senyawa seperti gula, asam amino, dan asam organik, yang juga memengaruhi komunitas mikroba serta ketersediaan unsur hara di rizosfer. Tumbuhan kemudian memanfaatkan nitrogen yang dihasilkan bakteri untuk metabolisme (Mahmud *et al.*, 2020).



Gambar 2.7 Bakteri penambat nitrogen yang bersimbiosis (berwarna merah) dan non-simbiosis (berwarna kuning) (Soumare *et al.*, 2022)

Mekanisme penambatan nitrogen dapat melalui pembentukan bintil akar (nodul) pada *Rhizobium*. Proses ini melibatkan faktor *nod* yang disintesis oleh bakteri dan flavonoid yang dilepaskan oleh akar legum. Bakteri menginfeksi akar dan merangsang pembentukan nodul. Nodul ini berwarna merah muda karena adanya pigmen leghemoglobin yang membantu mengikat oksigen (Boyd dan Peters, 2013).

Perbedaan antara fiksasi nitrogen simbiosis dan non-simbiosis meliputi beberapa aspek. Bakteri simbiosis, seperti *Rhizobia* dan *Frankia*, menerima karbon sederhana seperti suksinat dari tumbuhan inang, sedangkan bakteri non-simbiosis memanfaatkan karbon organik terlarut (DOC) di tanah. Konsentrasi oksigen di rizosfer untuk bakteri simbiosis dikontrol oleh tumbuhan inang, sedangkan bakteri non-simbiosis bergantung pada struktur dan tekstur tanah. Nutrisi penting seperti P, Fe, Mo, dan V diperoleh langsung dari tumbuhan oleh bakteri simbiosis, sementara bakteri non-simbiosis mencarinya di tanah. Selain itu, nitrogen hasil fiksasi simbiosis sepenuhnya disalurkan ke tumbuhan inang, sedangkan nitrogen dari bakteri non-simbiosis tersedia di tanah (Smercina *et al.*, 2019).



Gambar 2.8 Skema mekanisme penambat nitrogen oleh bakteri penambat nitrogen simbiosis dan non-simbiosis (Smercina *et al.*, 2019).

Pada Gambar 2.8 diketahui bahwa (a) bakteri penambat nitrogen simbiosis dilakukan oleh beberapa bakteri (seperti: *Rhizobia* dan *Frankia*) yang hidup membentuk populasi bakteri, (b) bakteri penambat nitrogen non-simbiosis didukung oleh adanya karbon organik terlarut (DOC: *Dissolved Organic Carbon*) di dalam tanah, sumber C yang bervariasi dan kompleks, sementara bakteri penambat nitrogen simbiosis menerima senyawa karbon sederhana (misalnya

suksinat) langsung dari tumbuhan inang. (c) Konsentrasi oksigen di rizosfer sangat bervariasi dan didukung oleh struktur dan tekstur tanah, serta penambat nitrogen simbiosis memperoleh oksigen pada konsentrasi rendah oleh tumbuhan inangnya. (d) Nutrisi yang diperlukan untuk bakteri penambat nitrogen non-simbiosis (seperti: P, Fe, Mo, dan V) harus diperoleh oleh diazotrof (mikroorganisme penambat N), sedangkan bakteri penambat nitrogen 2 simbiosis memperoleh nutrisi ini dari tumbuhan inangnya. (e) Diazotrof di rizosfer dapat memperoleh nitrogen dari tanah, sementara semua nitrogen yang terikat secara simbiosis dikirimkan ke tumbuhan inang (Smercina *et al.*, 2019).

2.4.3 Bakteri Pelarut Fosfat

Fosfor merupakan unsur penting setelah Nitrogen untuk tumbuhan. Fosfor total pada tanah masam memiliki konsentrasi yang tinggi namun ketersediaannya terbatas untuk diserap oleh tumbuhan (Sugianto *et al.*, 2019). Fosfor pada tanah dapat membantu tumbuhan dengan menerima dan mengubah energi sinar matahari menjadi zat yang dapat diurai bagi tumbuhan (Rawat *et al.*, 2021). Unsur hara fosfor pada tanah terbagi menjadi 2 bagian yaitu fosfor anorganik dan fosfor organik yang digunakan sebagai sumber hara penting bagi tanah, tumbuhan dan mikroorganisme lainnya. Fosfor anorganik merupakan bentuk fosfor yang berasal dari mineral fosfat (apatit), jerapan P pada partikel liat dan kompleks fosfat dan Fe. Fosfor dalam bentuk organik merupakan fosfor yang berasal dari bahan organik atau sisa-sisa tumbuhan, hewan dan mikroorganisme. Secara umum unsur hara fosfor yang bentuknya organik tidak dapat tersedia bagi tumbuhan serta dalam proses ketersediaannya fosfor organik perlu diubah melalui proses mineralisasi sehingga menjadi fosfor anorganik (Handayanto *et al.*, 2017).

Tanah mengandung fosfor dalam jumlah tinggi, ketersediannya bagi tumbuhan seringkali sangat rendah. Karena fosfor mudah bereaksi dengan senyawa lain. Terutama besi, aluminium, dan kalsium membentuk sedimen (Wang *et al.*, 2017). Upaya yang digunakan untuk memenuhi ketersediaan fosfor dalam tanah dapat dilakukan menggunakan metode biologi yaitu dengan adanya pemberian bakteri pelarut fosfat (Wei *et al.*, 2018).

Bakteri pelarut fosfat merupakan bakteri yang mampu melarutkan fosfat yang semula tidak tersedia menjadi tersedia. PGPR diketahui mampu melarutkan fosfat dengan mekanisme pembentukan khelat dan produksi asam-asam organik seperti asam format, asetat, propionat, laktat, glikolat, fumarat dan suksinat (Suliasih dan Widawati, 2017). Menurut Mindari dkk (2018) Bakteri yang dapat menarutkan fosfat antara lain bakteri *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Micrococcus*, *P. aeruginosa* dan lain-lain. Aktivitas bakteri pelarut fosfat mampu menghasilkan enzim fosfatase yang dapat memineralisasi fosfat organik yang ada di dalam tanah. Enzim fosfatase juga berperan peniting dalam proses hidrolisis fosfat organik menjadi fosfat anorganik (Natalie Fitriatin *et al.*, 2020). Bakteri pelarut fosfat juga menghasilkan asam organik seperti asam sitrat, asam glutamat dan asam suksinat serta bereaksi dengan unsur Al_2^+ atau Fe_2^+ yang menghasilkan senyawa kompleks yang stabil serta melepaskan ion fosfat yang terikat menjadi tersedia bagi tumbuhan (Pane, 2022).

Tumbuhan membutuhkan fosfor dalam proses pembentukan makromolekul, seperti protein, asam nukleat, membran plasma, ATP, vitamin dan beberapa senyawa sekunder. Selain itu, fosfor juga memainkan peran penting dalam perkembangan akar, penguatan batang, pembentukan bunga dan biji, produksi energi, reaksi penyimpanan, reaksi transfer, pertumbuhan akar, pembelahan dan pembesaran sel, ketahanan terhadap penyakit tumbuhan, transformasi gula menjadi pati, serta pengangkutan sifat genetik (Sharma *et al.*, 2013; Nikitha *et al.*, 2017). Aplikasi mikroba pelarut fosfat juga dapat meningkatkan pertumbuhan dan hasil panen pada tumbuhan wijen, padi, jagung, kacang kedelai dan kacang polong (Raj, 2014; Tajini *et al.*, 2012).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Desember 2024 hingga April 2025. Peneliti mengambil sampel tanah rizosfer akar di Desa Prijekngablak, Kecamatan Karanggeneng, Kabupaten Lamongan, pada lokasi berkoordinat 6°58'45.68" S, 112°19'05.91" E. Jl. Kamboja, Taman, Tamanprijeg. Proses isolasi serta uji karakter dan kemampuan produksi bakteri penghasil auksin, penambat nitrogen, dan pelarut fosfat pada PGPR dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Universitas Muhammadiyah Lamongan.

3.2 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan meliputi autoklaf, cawan Petri, api Bunsen, jarum ose, Erlenmeyer, neraca analitik, gelas ukur, tabung reaksi, *hot plate*, inkubator, batang kaca L, spektrofotometer *UV-Vis*, mikropipet, tabung sentrifugasi, tips biru, *aluminium foil*, *plastic wrap*, rak tabung reaksi, alat tulis, *laminar air flow* (LAF), microtube, mikro tip 1000 μ , jangka sorong.

Bahan yang digunakan penelitian adalah *Nutrient Agar* (NA), media *Nutrient Broth* (NB), L-triptofan, reagen *Salkowski*, medium *Ashby's Mannitol Agar*, media *Pikovskaya*, tri-kalsium fosfat, NaCl 0.9%, Alkohol 75%, aquades, larutan H₂O₃ 3 %, perwana Gram A (kristal violet), perwarna Gram B (larutan lugol), perwarna Gram D (larutan safranin).

3.3 Metode

3.3.1 Isolasi Bakteri Rizosfer Akar Bambu

Pengambilan sampel di rizosfer dilakukan dengan menggunakan tanah yang menempel pada akar bambu. Tanah diambil pada kedalaman 5-10 cm di sekitar perakaran tumbuhan diambil dari 1 titik. Dengan menimbang satu gram sampel tanah rizosfer disuspensi dalam 9 ml aquades yang disterilkan. Suspensi tanah diencerkan secara seri dalam kondisi aseptik. Sebanyak 0,1 ml sampel pada 3

pengenceran terakhir (10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6}) disebarkan pada media agar (NA) diikuti dengan inkubasi di inkubator selama 24 jam pada suhu 30°C . Koloni yang berbeda secara morfologis dipilih dan memberi nomer pada koloni.

3.3.2 Pemurnian Isolat PGPR

Pemurnian mikroba dilakukan dengan menggunakan metode gores. Satu koloni mikroba yang terpilih diambil menggunakan jarum ose kemudian digoreskan dengan metode gores 4 kuadran pada media NA. Setelah dipastikan murni, isolat tersebut mempertahankan kode penamaan awal yang diberikan pada tahap isolasi, di mana kode "K" menunjukkan koloni bakteri, diikuti dengan nomor urut 1 yang mencerminkan urutan koloni (koloni pertama, kedua, dan seterusnya), untuk memudahkan identifikasi dan pelacakan sepanjang penelitian. Koloni diinkubasi pada inkubator selama 24 jam pada suhu 45°C dan diamati pertumbuhannya.

3.3.3 Identifikasi Koloni secara Makroskopis

Bentuk koloni diamati secara langsung dengan melihat pertumbuhan koloni diatas permukaan NA. Bentuk koloni berupa *rhizoid*, *circular* atau *irregular* (Cappuccino dan Sherman, 2014)

3.3.4 Pewarnaan Gram

Isolat bakteri yang telah dimurnikan selanjutnya, koloni diambil secara aseptis menggunakan jarum ose. Lalu dioleskan merata di atas gelas objek teteskan aquades sebanyak 1 tetes. Kemudian, keringkan diatas api bunsen, lalu ditetaskan 2-3 tetesi kristal violet tunggu 1 menit. Kemudian bilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Kemudian ditetaskan 2-3 tetesi larutan lugol dan tunggu 1 menit. lalu bilas menggunakan air mengalir dan dikeringkan. Setelahnya, ditetaskan 2-3 tetesi alcohol-aseton pada gelas objek tunggu 30 detik hingga warna menghilang. Terakhir, ditetaskan 2-3 tetesi larutan safranin dan tunggu 30 detik kemudian bilas menggunakan air mengalir. Isolat bakteri kemudian dapat diamati pada mikroskop dengan perbesaran 1000x (Ibrahim *et al.*, 2017)

3.3.5 Uji Katalase

Pengujian ini menggunakan larutan H_2O_2 3% ditetaskan 2-3 pada gelas objek. Kemudian koloni bakteri diambil satu ose yang telah disterilisasi. Lalu diletakan di atas gelas objek. Campurkan suspensi secara perlahan. Bakteri yang

menunjukkan katalase positif ditandai dengan terbentuknya buih pada koloni (Barkay, *et al.*, 2013).

3.3.6 Uji Endospora

Pengujian endospora dilakukan pada isolat bakteri tahan panas. Masing-masing isolat diambil secara aseptik dengan menggunakan jarum ose. Bakteri dioleskan secara merata pada gelas objek steril dan diberi akuades. Isolat bakteri difiksasi diatas nyala bunsen sampai kering. Preparat ditutup dengan kertas yang mudah menyerap air, kemudian diletakkan diatas air mendidih selanjutnya ditetesi larutan pewarna *malachite green* dan didiamkan selama lebih kurang 10 menit. Preparat selanjutnya dicuci dengan air mengalir selama 30 detik. Setelah dikeringkan selanjutnya ditetesi dengan larutan safranin dan didiamkan selama 1 menit kemudian dibilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Preparat diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran kuat. Sebagai indikasi terdapatnya endospora akan berwarna hijau, dan bagian sel yang tidak mengandung endospora akan berwarna merah terang (Ahyani *et al.*, 2017).

3.3.7 Uji Aktivitas Penghasil Auksin

Uji Bioaktivitas Isolat uji produksi IAA dilakukan dengan metode spektrofotometri, yaitu dengan membuat acuan kurva standar dari IAA murni 1 ml+ reagen Salkowski 2 ml dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, 60 ppm, 70 ppm, 80 ppm, 90 ppm dan 100 ppm, yang diukur nilai absorbansinya pada spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm dan dimasukkan nilainya pada persamaan regresi. Kurva larutan standar IAA yang menunjukkan hubungan antara larutan standar IAA (x) dan absorbansinya (y), dengan bentuk sebagai berikut (Gordon & Weber, 1951). Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus kurva standar

$$y = ax + b \dots \dots \dots (3.1)$$

keterangan:

- y : Absorbansi
- a : Koefisien regresi
- x : Konsentrasi substrat (ppm)
- b : Konstanta

Uji kuantitatif produksi IAA dilakukan menggunakan metode spektrofotometri. Isolat diinokulasikan pada 50 ml NB + 200 ppm L-triptofan. Produksi IAA isolat diukur pada waktu inkubasi 0, 24, 48, dan 72 jam. Isolat diambil 5 mL kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit. Kemudian, 1 ml supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 ml reagen Salkowski serta di-vortex. Setelah diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, larutan dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA dihitung berdasarkan perbandingan dengan kurva standar IAA rumus 3.1 (Ariyani *et al.*, 2021)

3.3.8 Uji Penambat Nitrogen

Sampel tanah dari 3 titik (kiri, tengah dan kanan) dikeringkan dengan udara dan diayak dalam jumlah 50 gram, lalu ditumbuk dan dicampur dengan 5 gram manitol sehingga menjadi tanah yang diperkaya. Kemudian 14-15 ml air suling ditambahkan dan diaduk hingga tercampur rata. Campuran diinkubasi selama 5-7 hari pada suhu 30°C. Selama proses inkubasi, pengamatan dilakukan untuk pembentukan lendir (gelembung) yang mengindikasikan pertumbuhan bakteri pengikat nitrogen. Sepuluh gram tanah yang diperkaya kemudian diencerkan secara serial untuk menghasilkan konsentrasi 10^{-1} , 10^{-2} dan 10^{-3} . Dalam botol kaca 90 mL dengan konsentrasi 10^{-1} , 5 mL diambil dan dipindahkan ke botol lain yang berisi 45 ml air suling untuk menghasilkan konsentrasi 10^{-2} . Dan, dari botol 10^{-2} , 5 mL diambil dan dipindahkan ke botol lain yang berisi 45 ml air suling untuk menghasilkan konsentrasi 10^{-3} .

Uji penambat nitrogen media pertumbuhan *Nitrogen-free bacteria* (NFB) dengan komposisi yaitu Malic acid (1 g), KOH (0,8 g), K_2HPO_4 (0,1 g), $FeSO_4$ (0,01 g), $MnSO_4$ (0,002 g), $MgSO_4$ (0,004 g), NaCl (0,004 g), $CaCl_2$ (0.002 g), N_2MoO_2 (0.002 g), BTB (Bomothymol Blue) 2 ml, Bacto Agar (0.36 g) 200 ml akuades (Suwatno, 2012; O'Sullivan *et al.*, 2017). Komposisi tersebut dipanaskan di atas *Hot plate* hingga media tercampur dan larut. Setelah itu mulut labu Elenmeyer ditutup dengan kapas kasa dan dilapisi aluminium foil untuk disterilkan

dengan autoclave pada tekanan 1 atm, temperatur 121°C selama 15 menit dan dituangkan pada cawan petri yang sudah disterilisasi di dalam LAF.

Pada tahap selanjutnya, inokulasi dilakukan selama 10 hari hingga terjadi perubahan warna media dari kuning menjadi biru, yang menandakan bahwa isolat tersebut memiliki kemampuan untuk mengikat nitrogen (San Yu *et al.*, 2011; Cordova-Rodriguez *et al.*, 2022). Isolat yang terpilih kemudian dilakukan pewarnaan gram dengan sistem apusan kering. Tujuan pewarnaan gram bakteri untuk melihat morfologi bakteri dan golongan gram bakterinya, gram positif atau gram negatif. Sel bakteri yang berwarna ungu-kebiruan menandakan gram positif sedangkan merah menandakan gram negatif.

Kurva standar NH_4Cl digunakan dalam perhitungan pada uji kuantitatif. Kurva standar dibuat dari beberapa konsentrasi (0,125 ppm; 0,25 ppm; 0,5 ppm; dan 0,75 ppm). Setiap larutan NH_4Cl bervolume 50 ml ditambahkan dengan 1 ml reagen *Nessler*. Nilai absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menentukan persamaan linier kurva standar NH_4Cl dengan bentuk sebagai berikut. Perhitungan dilakukan dengan menggunakan rumus kurva standar penambat nitrogen (3.2) (Dewi, 2024).

$$y = ax + b \dots \dots \dots (3.2)$$

- y : Absorbansi
 a : Koefisien regresi
 x : Konsentrasi substrat (ppm)
 b : Konstanta

Pengukuran kemampuan penambat nitrogen secara kuantitatif dilakukan dengan mengukur konsentrasi ammonium yang dihasilkan isolat. Bakteri ditumbuhkan pada media *pepton broth* 10 ml dan diinkubasi selama tiga hari. Bakteri kemudian disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm selama 10 menit, diambil supernatannya, diberikan 1-2 tetes garam *seignette* (*Natrium Kalium Tartrat*) dan 0,5 ml *Reagen Nessler*. Selanjutnya, diuji menggunakan spektrofometer dengan Panjang gelombang 420 nm. Nilai hasil absorbansi

spektrofotometer di konversi menjadi ppm dengan menggunakan persamaan kurva standar (Asrul *et al.*, 2021).

3.3.9 Uji Pelarut Fosfat

Uji pelarutan fosfat dilakukan dengan menumbuhkan seleksi pelarut fosfat dilakukan dengan menumbuhkan semua koloni bakteri hasil eksplorasi pada media Pikovskaya dengan komposisi. Media pikovskaya ditimbang sebanyak 3,75 gram, lalu dimasukkan ke dalam *erlenmeyer* yang berisi 250 ml aquades steril. Erlenmeyer ditutup dengan aluminium foil dan *plastik wrap*, selanjutnya disterilkan dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 1 atm selama 15 menit.

Media yang telah disterilkan kemudian dimasukkan dalam cawan petri secara aseptik di dalam LAF. Isolat di inokulasi dengan cara menotolkan pada media padat tersebut. Cawan petri ditutup menggunakan plastik wrap dan cawan diletakkan secara terbalik agar uap tidak jatuh ke media. kemudian diinkubasi pada suhu 28 selama 7 hari di dalam inkubator. Indeks solubilisasi dihitung berdasarkan rasio diameter zona solubilisasi/diameter koloni menggunakan jangka sorong (Walida *et al.*, 2019). indeks kelarutan fosfat dilakukan menggunakan rumus:

$$\text{Indeks Kelarutan Fosfat} = \frac{\text{Luas koloni} + \text{Zona bening}}{\text{Luas koloni}} \dots\dots\dots(3.3)$$

- IP : Indeks Pelarutan (mm)
- Luas Zona Bening : Zona bening yang terbentuk setelah terbentuk beberapa hari inokulasi.
- Luas Koloni : Terbentuk setelah inokulasi

3.3 VARIABEL PENELITIAN

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah Jenis aktivitas bakteri: Penghasil auksin, penambat nitrogen, dan pelarut fosfat, Jenis bakteri PGPR yang berasal dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh).

3.4.2 Variabel Terkendali

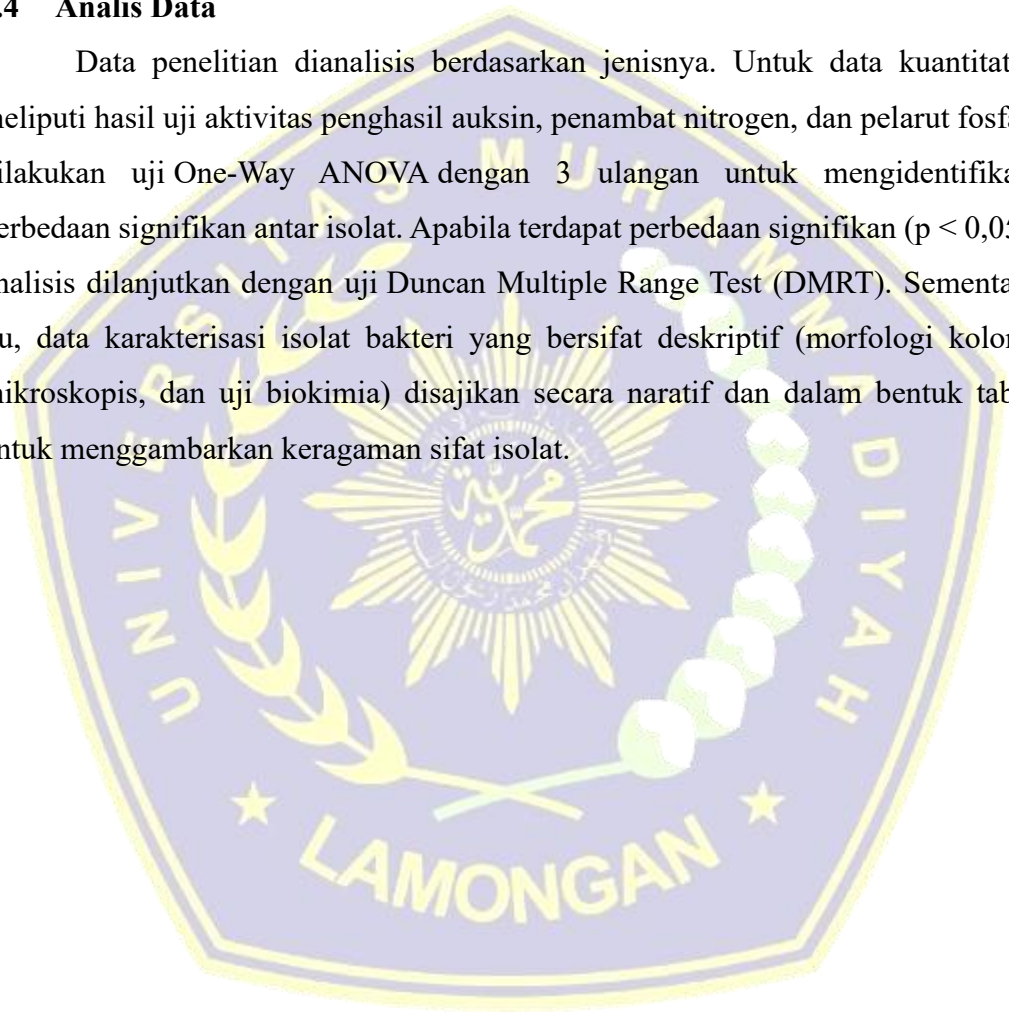
Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah pH, suhu, media tanam, waktu inkubasi, kelembapan,

3.4.3 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah aktivitas bakteri PGPR dalam menghasilkan auksin, menambat nitrogen, dan melarutkan fosfat.

3.4 Analis Data

Data penelitian dianalisis berdasarkan jenisnya. Untuk data kuantitatif, meliputi hasil uji aktivitas penghasil auksin, penambat nitrogen, dan pelarut fosfat, dilakukan uji One-Way ANOVA dengan 3 ulangan untuk mengidentifikasi perbedaan signifikan antar isolat. Apabila terdapat perbedaan signifikan ($p < 0,05$), analisis dilanjutkan dengan uji Duncan Multiple Range Test (DMRT). Sementara itu, data karakterisasi isolat bakteri yang bersifat deskriptif (morfologi koloni, mikroskopis, dan uji biokimia) disajikan secara naratif dan dalam bentuk tabel untuk menggambarkan keragaman sifat isolat.



BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

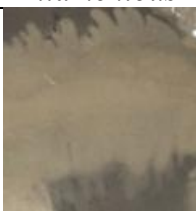
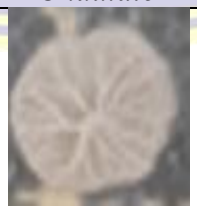
4.1.1 Hasil Uji Karakteristik Isolat

Penelitian ini berhasil mengisolasi enam isolat bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dari perakaran bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) (Tabel 4.1) yang kemudian diberi kode K1, K2, K3, K4, K5, dan K6. Uji karakteristik isolat ini bertujuan untuk mengetahui keragaman sifat morfologi dan biokimia bakteri yang diperoleh. Secara makroskopis, keenam isolat menunjukkan warna putih. Bentuk koloni isolat didominasi oleh bentuk irregular (tidak beraturan), meskipun terdapat (Tabel 4.2) variasi pada tepian koloni, mulai dari *filamentous*, *rhizoid*, *undulate*, hingga *entire* dan *lobate* (Zheng *et al.*, 2016; Pambudi, 2017). Pengamatan mikroskopis mengungkapkan bahwa isolat K1, K2, dan K6 berbentuk basil, sementara isolat K3, K4, dan K5 memiliki bentuk streptobasil.

Tabel 4.1 Hasil Karakterisasi isolat bakteri rizosfer akar bambu

Isolat	Makroskopik		Mikroskopik		Uji Biokimia	
	Tepi	Warna	Bentuk	Gram	Katalase	Endospora
K1	<i>Filamentous</i>	Putih	Basil	-	+	-
K2	<i>Rhizoid</i>	Putih	Basil	+	+	-
K3	<i>Undulate</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K4	<i>Undulate</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K5	<i>Eentire</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K6	<i>Lobate</i>	Putih	Basil	+	+	-

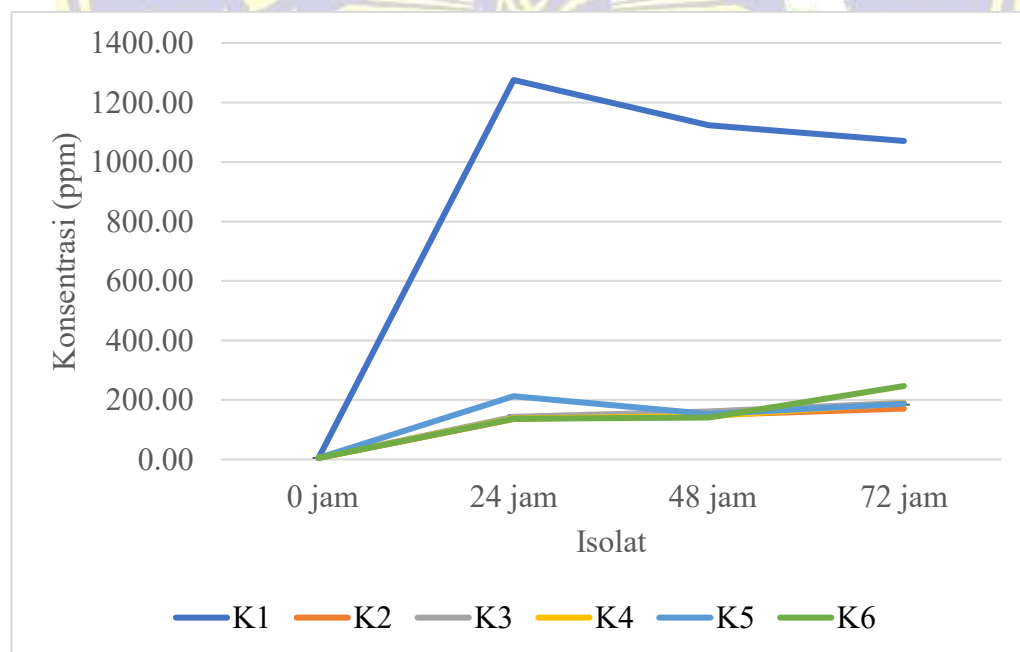
Tabel 4.2 Karakterisasi Morfologi Koloni

<i>Filamentous</i>	<i>Rhizoid</i>	<i>Undulate</i>	<i>Eentire</i>	<i>Lobate</i>
				
(Rieke, 2025)	(Rieke, 2025)	(Rieke, 2025)	(Rieke, 2025)	(Rieke, 2025)
K1	K2	K3 , K4	K5	K6

Karakterisasi lebih lanjut melalui pewarnaan gram menunjukkan bahwa hanya isolat K1 yang bersifat Gram negatif simbol (-), ditandai dengan warna merah. Sebaliknya, isolat K2, K3, K4, K5, dan K6 bersifat Gram positif simbol (+), ditandai dengan warna ungu kebiruan. Pengujian biokimia, meliputi uji katalase dan uji endospora, juga dilakukan. Hasil uji katalase menunjukkan bahwa semua isolat (K1, K2, K3, K4, K5, dan K6) memberikan hasil positif (+), ditandai dengan terbentuknya buih. Namun, uji endospora menunjukkan bahwa semua isolat bersifat negatif, yang berarti tidak ada endospora yang terbentuk dan sel-sel bakteri berwarna merah terang (-).

4.1.2 Hasil Bakteri Penghasil Auksin (IAA)

Seleksi bakteri penghasil *Indole Acetic Acid* (IAA) diawali dengan pengujian enam isolat menggunakan kurva standar IAA yang dibuat dari konsentrasi 10-100 ppm, ditambah reagen Salkowski, dan diukur pada spektrofotometer *UV-Vis* dengan panjang gelombang 530 nm. Konsentrasi IAA kemudian dihitung berdasarkan persamaan kurva standar tersebut (Lampiran 3.2).



Gambar 4.1 Grafik menunjukkan konsentrasi IAA yang dihasilkan oleh isolat bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam) pada waktu inkubasi 0 jam,

24 jam, 48 jam, dan 72 jam. Konsentrasi IAA tertinggi ditemukan pada inkubasi 24 jam untuk isolat K1.

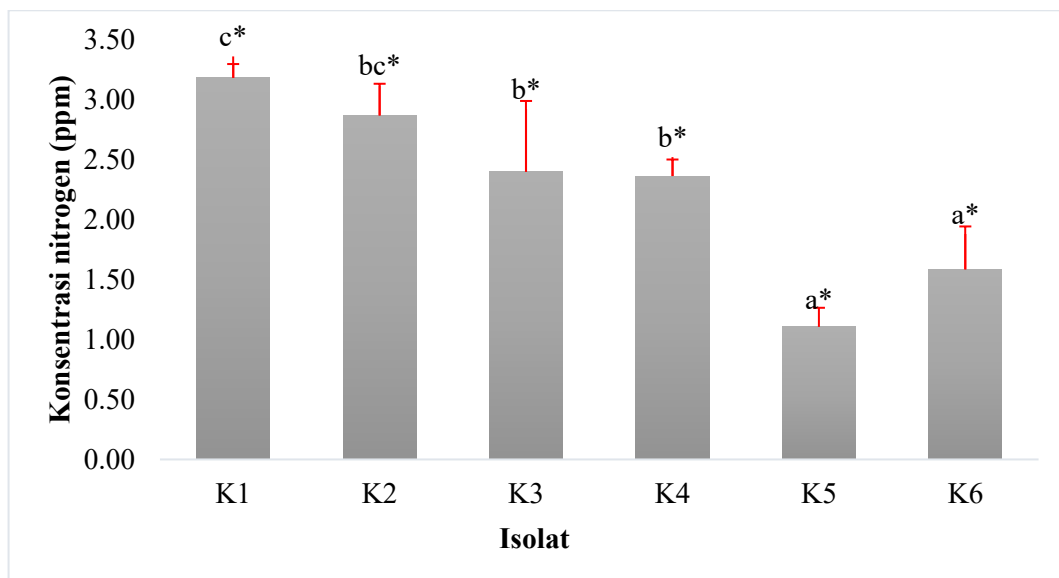
Hasil pengujian kuantitatif (Tabel 4.2) menunjukkan bahwa produksi IAA bervariasi antara isolat dan waktu inkubasi. Isolat K1 secara signifikan menunjukkan produksi IAA tertinggi pada inkubasi 24 jam, dengan nilai 1.275,61 ppm dan deviasi standar (STDV) $\pm 76,6$, yang lebih kecil dibandingkan dengan nilai mean hal ini menunjukkan bahwa hasil yang diperoleh relatif konsisten atau stabil. Namun, produksi IAA pada isolat K1 mengalami penurunan pada inkubasi 48 jam menjadi 1.123,79 ppm, dengan STDV $\pm 107,112$, dan terus menurun pada inkubasi 72 jam menjadi 1.071,06 ppm dengan STDV $\pm 27,29$. Sebaliknya, nilai terendah produksi IAA tercatat pada isolat KE pada inkubasi 0 jam, yaitu sebesar 4,90 ppm. Perubahan warna supernatan (Lampiran 4.5) isolat bakteri menjadi merah muda, meskipun tidak pekat, mengindikasikan adanya senyawa IAA yang terbentuk dari reaksi dengan reagen Salkowski.

4.1.3 Hasil Uji Penambat Nitrogen

Uji penambatan nitrogen secara kuantitatif dimulai dengan pembuatan kurva standar menggunakan NH_4Cl , (Lampiran 3.5) yang menghasilkan persamaan: $y = 0,1306x + 0,0509$. Kurva ini dibentuk dari beberapa konsentrasi berbeda, yaitu 0,125 ppm, 0,25 ppm, 0,5 ppm, dan 0,75 ppm dengan spektrofotometer *UV-Vis*. Dalam penelitian ini, dilakukan pengukuran penambatan nitrogen pada enam isolat yang berbeda. Hasil pengujian menunjukkan bahwa isolat dengan produksi penambatan nitrogen tertinggi adalah K1, dengan nilai sebesar 3,18 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa isolat K1 memiliki kemampuan penambatan nitrogen yang paling efektif di antara yang lainnya. Setelah K1, isolat yang menunjukkan nilai penambatan nitrogen yang tinggi adalah K2, dengan hasil 2,87 ppm. K2 sedikit lebih rendah daripada K1, namun tetap menunjukkan kemampuan penambatan nitrogen yang signifikan dibandingkan isolat lainnya dalam penelitian ini.

Selanjutnya, isolat K3 memiliki nilai penambatan nitrogen sebesar 2,40 ppm, diikuti oleh K4 yang menghasilkan 2,36 ppm. Meskipun keduanya memiliki nilai yang hampir setara, K3 sedikit lebih unggul daripada K4 dalam hal penambatan nitrogen. Isolat K6 menunjukkan hasil penambatan nitrogen sebesar

1,59 ppm, yang sedikit lebih rendah dari K4 dan K3. Sementara itu, isolat dengan penambatan nitrogen terendah adalah K5, dengan hasil 1,11 ppm. Meskipun begitu, semua isolat menunjukkan kapasitas yang cukup baik dalam penambatan nitrogen, meskipun ada perbedaan signifikan antar mereka.

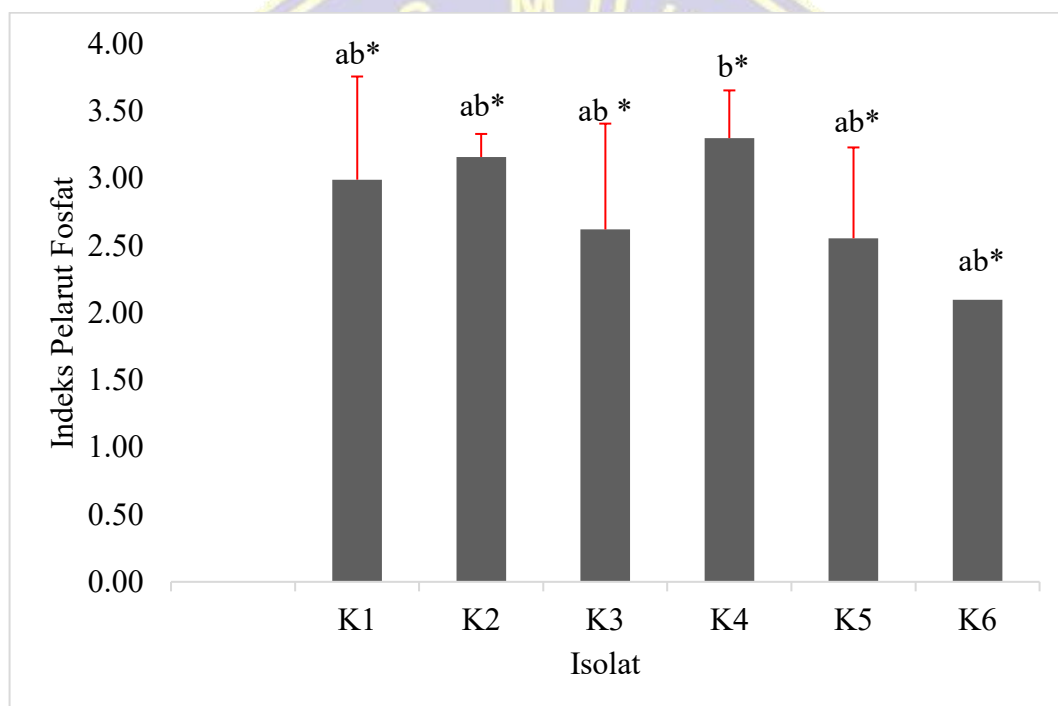


Gambar 4.2 Konsentrasi penambatan nitrogen pada isolat bakteri. Data disajikan dalam mean $\pm$ SD. Simbol huruf dan * menunjukkan signifikansi $p < 0,05$. Diberi kode isolat bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam).

Isolat K1 memiliki konsentrasi nitrogen tertinggi, yaitu 3,18 ppm, sementara isolat K5 memiliki konsentrasi terendah, yaitu 1,11 ppm (Gambar 4.1). Dalam analisis mean $\pm$ standar deviasi (STDV) dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang dilambangkan dengan simbol *, menunjukkan perbandingan signifikansi antar kelompok (Lampiran 1.8). Beberapa data menunjukkan perbedaan yang signifikan, yang ditandai dengan kode pada bagian atas standar deviasi. Terdapat tiga kode yang menunjukkan posisi dalam kolom subset hasil uji Duncan, yang mengindikasikan bahwa ada isolat yang menunjukkan perbedaan signifikan, yang dibedakan dengan kode a, b, c, dan ab, c. Isolat K1 menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan dibandingkan dengan isolat lainnya. Simbol huruf tersebut menggambarkan tingkat pengaruh signifikansi isolat dalam kemampuan mereka untuk mengikat nitrogen.

Enam isolat bakteri PGPR dari bambu diuji secara kualitatif untuk mengetahui kemampuan mereka dalam menambat nitrogen. Dari enam isolat tersebut, lima di antaranya, yaitu dengan kode isolat K1, K2, K3, K4, dan K6, terbukti memiliki kemampuan dalam menambat nitrogen. Perubahan warna pada media *Nitrogen Free bacteria* (NFB) dari kuning ke hijau dan akhirnya menjadi biru (Lampiran 4.6) menunjukkan bahwa isolat tersebut mampu menambat nitrogen. Sementara itu KE tidak terjadi perubahan warna hanya tetap warna kuning kehijauan yang menandakan negatif tidak ada reaksi penambat nitrogen.

4.1.4 Hasil Uji Pelarut Fosfat



Gambar 4.3 Grafik Uji Pelarut Fosfat dengan IPF. Data disajikan dalam mean $\pm$ SD. Simbol huruf dan * menunjukkan signifikansi $p < 0,05$. Diberi kode isolat bakteri K1 (isolat pertama), K2 (isolat kedua), K3 (isolat ketiga), K4 (isolat keempat), K5 (isolat kelima), dan K6 (isolat keenam).

Pengujian pelarutan fosfat menunjukkan bahwa keenam isolat PGPR dari akar bambu (K1, K2, K3, K4, K5, dan K6) memiliki potensi untuk melarutkan fosfat. Indikasi kemampuan ini terlihat dari terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media Pikovskaya (Gambar 4.2) menunjukkan bahwa isolat-isolat memiliki variasi dalam pengaruh pelarut, baik yang tinggi maupun rendah. Isolat

K4 memiliki konsentrasi tertinggi, yaitu 3,30, sementara isolat K6 memiliki konsentrasi terendah, yakni 2,10. Data tersebut disajikan dalam bentuk mean $\pm$ STDV pada tabel (Lampiran 1.8), dengan nilai signifikansi $p < 0,05$ yang ditandai dengan simbol asterik (*), yang menunjukkan adanya perbandingan signifikansi. Beberapa data menunjukkan perbedaan yang signifikan, yang dapat dilihat pada penandaan kode di atas standar deviasi. Dua kode yang digunakan menunjukkan posisi kolom subset pada hasil uji Duncan, yang memperlihatkan adanya isolat dengan perbedaan signifikan. Kode-kode tersebut adalah a, b, dan ab, yang menunjukkan tingkat perbedaan yang sangat signifikan pada isolat K4. Simbol huruf tersebut merepresentasikan tingkatan pengaruh signifikansi isolat dalam pengujian pelarut fosfat (Lampiran 3.9).

4.1.5 Hasil Uji Kemampuan Bakteri

Hasil penelitian menunjukkan keragaman yang signifikan dalam kemampuan isolat PGPR dari rizosfer bambu untuk melakukan ketiga aktivitas tersebut. Pada uji aktivitas penghasil auksin (IAA), isolat K1 menunjukkan produksi IAA tertinggi secara signifikan pada inkubasi 24 jam (1.275,61 ppm), meskipun terjadi penurunan pada jam inkubasi berikutnya. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat K1 memiliki potensi besar sebagai penghasil hormon pertumbuhan, yang dapat memacu perkembangan akar dan biomassa tumbuhan. Sementara itu, pada uji penambatan nitrogen, isolat K1 juga menjadi yang terbaik dengan konsentrasi nitrogen tertinggi (3,18 ppm), diikuti oleh isolat K2 (2,87 ppm). Kemampuan isolat K1 dalam memfiksasi nitrogen sangat krusial karena nitrogen merupakan unsur hara makro utama yang seringkali menjadi faktor pembatas pertumbuhan tumbuhan di lahan marginal (Bahuguna *et al.*, 2021).

Meskipun semua isolat menunjukkan kemampuan melarutkan fosfat, dengan terbentuknya zona bening pada media Pikovskaya, analisis statistik menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan signifikan secara statistik antar isolat dalam hal ini. Isolat K4 memiliki Indeks Pelarutan Fosfat (IPF) tertinggi sebesar 3,30 mm, yang termasuk dalam kategori sedang. Ini berarti semua isolat memiliki potensi untuk meningkatkan ketersediaan fosfor bagi tumbuhan, meskipun tingkat efisiensinya relatif beragam di antara mereka (Bouizgarne *et al.*, 2023). Secara

keseluruhan, isolat K1 menonjol sebagai kandidat paling potensial karena kemampuannya yang superior dalam memproduksi auksin dan menambat nitrogen, menjadikannya agen biofertilizer yang sangat menjanjikan untuk aplikasi pertanian berkelanjutan.

4.2 Pembahasan

4.2.1 Karakteristik Isolat

Tanah yang menempel pada akar bambu diambil pada kedalaman 5-10 cm di sekitar perakaran tumbuhan diambil dari 1 titik. Aktivitas mikroorganisme di rizosfer dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh akar tumbuhan. Sebagian mikroorganisme rizosfer memiliki peran dalam siklus unsur hara, proses pembentukan tanah, pertumbuhan tumbuhan, mempengaruhi aktivitas mikroorganisme lainnya, serta berfungsi sebagai agen pengendalian hayati (Putra *et al.*, 2020). Karakterisasi bakteri dilakukan melalui pengamatan terhadap morfologi koloni, morfologi sel, tipe gram, dan uji biokimia, sesuai dengan prosedur yang dijelaskan pada.

Penelitian ini berhasil mengisolasi enam isolat PGPR dari akar bambu, yang diberi kode K1, K2, K3, K4, K5, dan K6. Pengamatan makroskopis dilakukan sebagai langkah awal dalam identifikasi bakteri. Setiap spesies bakteri memiliki morfologi yang khas, sehingga tahap ini penting untuk menyaring bakteri yang tidak sesuai dengan kriteria yang diinginkan. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan penglihatan langsung atau menggunakan kaca pembesar untuk memperjelas tampilan koloni bakteri yang diamati (Gauchan *et al.*, 2022).

Dari enam isolat yang tumbuh pada media NA, terdapat variasi dalam bentuk, elevasi, warna, dan tepian koloni (Tabel 4.1). Koloni makroskopis dari masing-masing isolat umumnya berbentuk melingkar, meskipun ada yang berbentuk tidak beraturan (irregular). Tepi koloni bervariasi, mulai dari yang *filamentous*, *rhizoid*, *undulate*, hingga *entire* dan *lobate*. Semua isolat memiliki warna putih. Penelitian (Maya K.C *et al.*, 2022) Hidayat (2017) melaporkan bahwa eksplorasi bakteri tanah pada rizosfer dari enam jenis bambu menghasilkan 12 isolat.

Pada pengamatan mikroskopik, keenam isolat menunjukkan variasi dalam bentuk morfologi, dengan isolat K1, K2, dan K6 berbentuk basil, sementara isolat K3, K4, dan K5 memiliki bentuk streptobasil. Selanjutnya, pewarnaan Gram dilakukan untuk mengklasifikasikan bakteri menjadi dua kelompok utama, yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Hasil pewarnaan Gram menunjukkan bahwa dari enam sampel yang dianalisis, satu sampel berwarna merah, yang mengindikasikan sifat gram negatif, ditandai dengan tanda (-), sementara lima sampel lainnya menunjukkan warna biru, menandakan sifat gram positif, yang ditandai dengan tanda (+) (Tabel 4.1). Bakteri gram positif mempertahankan warna ungu setelah ditetesi reagen kristal violet, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah akibat pencucian dengan alkohol 95%, yang menyebabkan peningkatan porositas dinding sel dan melarutkan lipid bagian luar, sehingga dinding sel mudah terlepas dari lapisan peptidoglikan yang tidak terikat kuat (Bambang *et al.*, 2014). Selain itu, faktor-faktor seperti usia kultur bakteri, metode pewarnaan, dan waktu pewarnaan juga mempengaruhi hasil pewarnaan. Oleh karena itu, penggunaan metode dan waktu pewarnaan yang tepat sangat penting untuk memperoleh hasil yang akurat (Hanafi *et al.*, 2017; Rahman *et al.*, 2022).

Selain pengamatan makroskopik dan mikroskopik, dilakukan juga uji biokimia. Berdasarkan hasil uji endospora, mayoritas isolat bakteri yang diperoleh dari rizosfer PGPR bambu tidak ditemukan endospore berwarna merah yakni isolat K1, K2, K3, K4, K5 dan K6. Pewarnaan endospora bertujuan untuk mengetahui apakah isolat bakteri menghasilkan endospora atau tidak. Bakteri yang menghasilkan endospora akan berwarna hijau, sedangkan sel vegetatif akan berwarna merah (Kaewchomphunuch, 2022; Oktari *et al.*, 2017). Pada uji katalase, hasil menunjukkan mayoritas sampel isolat dari rizosfer PGPR akar bambu berbuih ditandai dengan (+) pada semua 6 isolat K1, K2, K3, K4, K5 dan K6.

Enzim katalase merupakan enzim yang mengkatalisasikan penguraian hidrogen peroksida (H_2O_2) menjadi air dan oksigen (Prihanto *et al.*, 2018). Menurut (Bhat *et al.*, 2023) keragaman spesies pada PGPR menimbulkan berbagai macam mekanisme meliputi produksi biofilm untuk meningkatkan pengikatan tanah pada akar dan pengaturan kadar air relatif, memicu respon osmotik melalui produksi dan

akumulasi osmolit, peningkatan serapan hara, pemeliharaan homeostasis ion, peningkatan produksi zat pengatur tumbuh, peningkatan pertahanan antioksidan, peningkatan kadar klorofil, peningkatan karbon, peningkatan nitrogen, produksi HCN dan siderofor, serta mengatur ekspresi gen dan protein penghilang stres.

4.2.2 Uji Bakteri Penghasil Auksin (IAA)

Aktivitas produksi hormon tumbuh *Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan salah satu mekanisme utama *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) dalam menstimulasi pertumbuhan tumbuhan (Herlina, 2016; Rover, 2019). Uji kuantitatif IAA dilakukan menggunakan metode spektrofotometri kolorimetri, melibatkan penggunaan reagen Salkowski dan penambahan prekursor L-triptofan 200 ppm. L-triptofan berperan krusial sebagai prekursor dalam biosintesis IAA oleh bakteri (Wagi dan Ahmed, 2019). Menunjukkan bahwa penambahan L-triptofan pada media tumbuh secara signifikan memaksimalkan produksi IAA (Bharucha *et al.*, 2013). Triptofan yang dikeluarkan oleh eksudat perakaran kemudian dimetabolisme oleh bakteri rizosfer yang memiliki kemampuan sintesis hormon IAA. Mekanisme biosintesis IAA dari triptofan oleh bakteri melibatkan setidaknya lima jalur, yaitu *Indole-3 Acetamide* (IAM), *Indole-3-Pyruvic acid* (IPyA), *Indole-3-Acetonitrile* (IAN), *Tryptamine* (TAM), dan *tryptophan side-chain oxidase* (TSO) (Li *et al.*, 2018).

Hasil produksi IAA pada inkubasi 24 jam dengan isolat K1 adalah 1.275,61 ppm. Pada inkubasi 48 jam, nilai K1 menurun menjadi 1.123,79 ppm, lebih rendah dibandingkan dengan inkubasi 24 jam. Sedangkan pada inkubasi 72 jam, nilai K1 kembali menurun menjadi 1.071,06 ppm. Nilai terendah ditemukan pada inkubasi 0 jam dengan K5, yaitu 4,90 ppm. Penelitian yang dilakukan oleh Lengkong (2022) menunjukkan bahwa dari enam sampel akar bambu yang berbeda berhasil diisolasi sembilan isolat bakteri rizosfer yang mampu memproduksi IAA dengan konsentrasi berkisar antara 13,22 hingga 39,52 mg/L. Produksi IAA oleh bakteri PGPR cukup variatif, Tangapo (2020) melaporkan bahwa produksi IAA pada 21 isolat bakteri endofit dan rizosfer ubi Cilembu berada pada kisaran 0,96 – 115,63 mg/L. Meskipun demikian, isolat KA menunjukkan aktivitas produksi IAA yang optimal pada waktu inkubasi 24 jam, mengindikasikan fase

pertumbuhan aktif bakteri. Waktu inkubasi terbaik untuk perhitungan hormon IAA umumnya berkisar antara 48 hingga 72 jam, yaitu saat bakteri memasuki fase stasioner (Dewi, 2015; Anugrah *et al.*, 2021).

Produksi IAA cenderung meningkat ketika kondisi pertumbuhan bakteri mulai menurun, seperti saat ketersediaan karbon terbatas atau dalam lingkungan pH asam. Kondisi ini seringkali terjadi ketika bakteri memasuki fase stasioner, memicu produksi metabolit sekunder seperti IAA. Berdasarkan hasil pengamatan, supernatan isolat bakteri mengalami perubahan warna menjadi merah muda namun tidak pekat (Lampiran 4.5). Perubahan warna terjadi karena senyawa $\text{Fe}_2(\text{OH})_2(\text{IA})_4$ terbentuk akibat reaksi antara IAA dengan Fe pada reagen Salkowski sehingga isolat yang mampu menghasilkan senyawa IAA akan berwarna merah (Kristianti, 2023). Jika konsentrasi reagen Salkowski yang digunakan semakin tinggi maka berpotensi menghasilkan perubahan warna yang semakin pekat pula (Handayani *et al.*, 2020). Bakteri rizosfer yang menghasilkan IAA dapat meningkatkan jumlah rambut akar, ukuran, dan jumlah akar adventif tumbuhan. Pada saat tersedia prekursor asam amino triptofan maka bakteri-bakteri rizosfer mensintesis hormon IAA sebagai metabolit sekunder (Rini *et al.*, 2020).

Hasil penelitian ini menunjukkan adanya variasi signifikan dalam karakteristik dan kemampuan produksi IAA oleh bakteri PGPR yang diisolasi dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh). Temuan ini mengungkapkan bahwa hanya satu dari enam isolat (K1) yang menunjukkan kemampuan menghasilkan IAA dengan konsentrasi dan absorbansi tertinggi dalam kurun waktu 24 jam, mengindikasikan adanya perbedaan signifikan dalam potensi produksi IAA antar isolat tersebut.

Karakteristik morfologi dan sifat biokimia yang berbeda antar isolat, seperti bentuk dan hasil uji biokimia yang menunjukkan bahwa isolat K1 bersifat gram negatif, juga mencerminkan adanya variasi dalam karakteristik bakteri. Puncak produksi IAA yang terjadi pada 24 sampai 72 jam terkait dengan fase stasioner pertumbuhan bakteri, yang mengindikasikan adanya hubungan antara proses pertumbuhan bakteri dan produksi IAA (Lie *et al.*, 2018). Temuan ini menegaskan adanya keragaman dalam kemampuan bakteri untuk menghasilkan senyawa

tersebut, sejalan dengan tujuan penelitian untuk mengidentifikasi kemampuan isolat-isolat ini.

4.2.3 Uji Penambat Nitrogen

Uji penambatan nitrogen dilakukan untuk mengevaluasi kemampuan isolat bakteri PGPR dari akar bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) dalam memfiksasi nitrogen bebas. Penggunaan media *Nitrogen-Free bacteria* (NFB) yang tidak mengandung unsur nitrogen, memastikan bahwa pertumbuhan bakteri bergantung pada kemampuannya menambat nitrogen dari udara (Pratiwi *et al.*, 2020). Komposisi media NFB, termasuk asam malat sebagai sumber energi dan sodium molibdat untuk aktivitas nitrogenase, mendukung pertumbuhan bakteri penambat nitrogen nonsimbiotik (Nurosid *et al.*, 2008; Burén *et al.*, 2017).

Hasil uji kualitatif menunjukkan bahwa lima dari enam isolat (K1, K2, K3, K4, dan K6) positif mampu menambat nitrogen, ditandai dengan perubahan warna media NFB semi padat dari kuning kehijauan menjadi biru (Lampiran 4.6). Perubahan warna ini terjadi karena bakteri penambat nitrogen menghasilkan amonia (NH_3) yang kemudian bereaksi dengan air membentuk ion hidroksida (OH^-), meningkatkan pH lingkungan menjadi basa, sehingga indikator bromothymol blue berubah warna (Haruta *et al.*, 2004; Sukweenadhi *et al.*, 2019). Isolat K5 tidak menunjukkan perubahan warna, mengindikasikan ketidakmampuannya dalam menambat nitrogen. Bakteri penambat nitrogen nonsimbiotik, seperti yang diuji di sini, memperoleh sumber karbon dan energi dari lingkungan (Sapalina *et al.*, 2022), dan perubahan warna media Nfb menjadi biru adalah indikasi aktivitas diazotrof (Hingole & Pathak, 2016).

Uji kuantitatif menggunakan metode Nessler dan spektrofotometri pada panjang gelombang 420 nm (Asrul dan Aryantha, 2021) mengukur konsentrasi amonium yang dihasilkan. Isolat ditumbuhkan pada media pepton broth yang menyediakan sumber karbon optimal untuk aktivitas enzim nitrogenase (Asrul dan Aryantha, 2021; Zehr, 2021). Hasil menunjukkan variasi konsentrasi amonium di antara isolat (Gambar 4.2). Isolat K1 menunjukkan konsentrasi nitrogen tertinggi sebesar 3,18 ppm, diikuti oleh isolat K2 dengan 2,87 ppm, K3 dengan 2,40 ppm,

K4 dengan 2,36 ppm, dan K6 dengan 1,59 ppm. Isolat K5 memiliki konsentrasi terendah, yaitu 1,11 ppm. Konsentrasi amonium yang diperoleh dari isolat K1 jauh lebih tinggi dibandingkan dengan hasil penelitian Ummah *et al.* (2019) yang berkisar antara 1.842-2.242 ppm. Perbedaan konsentrasi ini dapat disebabkan oleh variasi kemampuan organisme dalam menghasilkan ATP dan memperoleh sumber energi dari lingkungan (Danapriatna, 2010; Khammas *et al.*, 2019).

Analisis statistik One-Way ANOVA (Lampiran 5.3) menunjukkan adanya perbedaan signifikan ($p < 0.05$) dalam konsentrasi nitrogen antar isolat. Ini berarti terdapat perbedaan nyata dalam kemampuan produksi nitrogen antar isolat yang diuji. Uji lanjut *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) (Lampiran 5.3) lebih lanjut mengkonfirmasi bahwa isolat K1 menunjukkan perbedaan yang sangat signifikan dibandingkan isolat lainnya, menegaskan bahwa isolat K1 memiliki kemampuan penambatan nitrogen terbaik. Hasil ini secara kuat menunjukkan adanya aktivitas penambat nitrogen pada bakteri PGPR dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh), dengan tingkat kemampuan yang bervariasi antar isolat, sesuai dengan tujuan penelitian untuk mengevaluasi kemampuan tersebut.

4.2.4 Uji Pelarut Fosfat

Fosfor merupakan unsur hara esensial bagi tumbuhan, namun ketersediaannya di tanah seringkali terbatas karena mudah bereaksi dengan senyawa lain membentuk sedimen (Wang *et al.*, 2017; Sugianto *et al.*, 2019). Oleh karena itu, penggunaan bakteri pelarut fosfat menjadi strategi biologis yang efektif untuk meningkatkan ketersediaan fosfor (Wei *et al.*, 2018). Bakteri PGPR melarutkan fosfat melalui produksi asam organik dan pembentukan khelat (Suliasih dan Widawati, 2017). Aktivitas BPF juga melibatkan produksi enzim fosfatase yang memineralisasi fosfat organik menjadi anorganik (Natalie Fitriatin *et al.*, 2020).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua isolat PGPR dari akar bambu (K1, K2, K3, K4, K5, dan K6) memiliki potensi untuk melarutkan fosfat, yang ditunjukkan oleh terbentuknya zona bening di sekitar koloni pada media Pikovskaya (Gambar 4.2). Berdasarkan kategori Indeks Pelarutan (IP) oleh Marciano Marra *et al.* (2012) (dalam Sonia, 2022), semua isolat menunjukkan IP sedang, dengan kisaran antara 2 hingga 4. Isolat K4 menunjukkan rata-rata Indeks

Pelarutan Fosfat tertinggi sebesar 3.30 mm (Lampiran 3.8). Zona bening ini merupakan indikasi bahwa fosfat yang awalnya tidak terlarut telah diubah menjadi bentuk terlarut melalui aktivitas enzim fosfatase yang diproduksi oleh bakteri (Rizqiyah *et al.*, 2022).

Proses pelarutan fosfat terjadi ketika bakteri mengeluarkan asam organik (seperti asam sitrat, glutamat, dan suksinat) yang berinteraksi dengan ion Ca^{2+} dari sumber fosfat, sehingga melepaskan ion fosfat yang terikat (Oksana *et al.*, 2020). Bakteri pelarut fosfat yang efektif, seperti yang mampu membentuk zona bening dengan cepat, berpotensi sebagai biofertilizer karena dapat melarutkan unsur fosfat yang terikat dengan Fe, Al, Ca, dan Mg, sehingga tersedia bagi tumbuhan (Rini, 2020).

Meskipun demikian, analisis statistik One-Way ANOVA (Lampiran 5.4) menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan ($p > 0.05$) dalam hasil uji pelarut fosfat antar isolat. Nilai signifikansi (2-tailed) untuk setiap isolat (K1: 0,999, K2: 0,939, K3: 0,381, K4: 0,285, K5: 0,297, K6: 0,416) semuanya di atas 0,05, mengindikasikan bahwa perbedaan dalam kemampuan pelarutan fosfat di antara isolat-isolat ini tidak signifikan secara statistik. Hal ini mungkin disebabkan oleh faktor lingkungan seperti eksudat tumbuhan, kadar C-organik, dan P-tersedia dalam tanah yang dapat mempengaruhi populasi bakteri pelarut fosfat (Niswati *et al.*, 2008; Suparnorampus *et al.*, 2020). Meskipun tidak ada perbedaan signifikan secara statistik, temuan bahwa semua isolat menunjukkan kemampuan pelarutan fosfat (IP sedang) tetap menjawab rumusan masalah kedua, yaitu bahwa bakteri PGPR dari akar bambu menghasilkan aktivitas pelarut fosfat.

4.2.5 Kemampuan Aktivitas Bakteri

Bakteri *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) yang diisolasi dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) menunjukkan spektrum kemampuan multifungsi yang terintegrasi secara sinergis untuk mendukung pertumbuhan tumbuhan. Mekanisme ini tidak beraktivitas secara diskrit, melainkan saling melengkapi dalam mengoptimalkan ketersediaan nutrisi dan hormon esensial bagi inang tumbuhan (Nugraha *et al.*, 2023). Pemahaman mendalam tentang interaksi

kompleks ini krusial untuk pengembangan biofertilizer yang efektif dan berkelanjutan.

Di antara berbagai strategi PGPR untuk meningkatkan pertumbuhan tumbuhan, produksi auksin, terutama *Indole Acetic Acid* (IAA), merupakan salah satu kontribusi yang paling signifikan. Hormon ini vital dalam memicu pemanjangan sel, mendorong perkembangan sistem perakaran, dan memfasilitasi pembentukan jaringan tumbuhan (Li *et al.*, 2017; Sallami *et al.*, 2023). Peningkatan luas permukaan akar yang diinduksi oleh IAA secara langsung meningkatkan efisiensi penyerapan nutrisi dari tanah. Lebih lanjut, biomassa akar yang lebih besar menciptakan lingkungan rizosfer yang diperkaya eksudat, yang pada gilirannya mendukung kolonisasi dan aktivitas mikroba bermanfaat lainnya, termasuk bakteri penambat nitrogen dan pelarut fosfat (Hernández-Mendoza *et al.*, 2022). Dengan demikian, aktivitas IAA berfungsi sebagai fondasi biologis yang memperkuat interaksi mikroba di zona perakaran.

Isolat K1 dalam studi ini, isolat K1 menunjukkan performa superior dalam produksi IAA, mencapai konsentrasi tertinggi sebesar 1.275,61 ppm pada 24 jam inkubasi. Hasil karakterisasi morfologi dan biokimia mengungkapkan bahwa isolat K1 adalah bakteri Gram negatif berbentuk basil dengan tepi koloni filamentous. Sifat Gram negatif sering dikaitkan dengan keunggulan adaptif di lingkungan rizosfer, termasuk kemampuan untuk memanfaatkan eksudat akar secara efisien, yang merupakan prasyarat penting untuk biosintesis IAA (Grover *et al.*, 2021). Morfologi basil dan tepi filamentous mungkin juga berkontribusi pada kemampuan kolonisasi yang efektif, memungkinkan akses optimal terhadap prekursor IAA. (Charlton *et al.*, 2022). Efisiensi ini mungkin menjelaskan mengapa K1 mampu menghasilkan IAA dalam jumlah yang signifikan dibandingkan isolat lain.

Di samping biosintesis IAA, kapasitas bakteri untuk memfiksasi dinitrogen atmosferik merepresentasikan kontribusi ekologis yang sama vitalnya. Sebagai nutrisi makro krusial, ketersediaan nitrogen seringkali membatasi laju pertumbuhan tumbuhan, terutama di ekosistem dengan karakteristik tanah marginal. Bakteri penambat nitrogen memiliki kapasitas unik untuk mengubah gas nitrogen (N_2) yang tidak dapat diakses tumbuhan menjadi bentuk yang dapat

diserap, seperti amonium (NH_4^+) dan nitrat (NO_3^-), sehingga menjamin pasokan nutrisi vital ini (Jilani *et al.*, 2021).

Korelasi antara tingginya produksi IAA dan kemampuan penambatan nitrogen pada isolat K1 Gram negatif, basil, filamentous sangat signifikan. Bakteri Gram negatif, seperti banyak spesies *Pseudomonas* yang umum di rizosfer, dikenal memiliki jalur metabolisme yang efisien dan adaptabilitas tinggi terhadap berbagai kondisi lingkungan, termasuk dalam proses fiksasi nitrogen (Abid & Ahmed, 2018). Sistem perakaran yang sehat dan berkembang optimal berkat stimulasi IAA menyediakan lebih banyak situs kolonisasi bagi bakteri penambat nitrogen, sehingga mengoptimalkan efisiensi fungsionalnya. Lingkungan rizosfer yang kaya akan eksudat akar juga mendukung aktivitas enzim nitrogenase, yang krusial untuk fiksasi nitrogen, sehingga meningkatkan ketersediaan nitrogen bagi tumbuhan (Wang, 2022). Meskipun isolat lain (K2, K3, K4, K6) juga menunjukkan kemampuan menambat nitrogen, konsentrasi yang dihasilkan lebih rendah, mengindikasikan variasi efisiensi yang mungkin terkait dengan perbedaan karakteristik morfologi dan biokimia antar isolat misalnya, K2 dengan tepi rhizoid, K3 dan K4 dengan tepi undulate dan berbentuk streptobasil.

Bakteri pelarut fosfat memainkan peran vital dalam mengatasi tantangan ketersediaan fosfor di tanah. Fosfor adalah unsur hara esensial kedua setelah nitrogen, namun seringkali terikat dalam bentuk yang tidak dapat diserap oleh tumbuhan (Muindi, 2019). Mikroorganisme ini mampu melarutkan fosfat yang terikat di tanah menjadi bentuk yang tersedia, umumnya melalui sekresi asam organik seperti asam sitrat, glutamat, dan suksinat (García-Sánchez *et al.*, 2023).

Isolat K4 Meskipun semua isolat menunjukkan kemampuan melarutkan fosfat, isolat K4 memiliki Indeks Pelarutan Fosfat (IPF) tertinggi sebesar 3,30 mm, yang dikategorikan sedang. Isolat K4, yang berbentuk streptobasil, Gram positif, dan memiliki tepi koloni undulate, menunjukkan bahwa karakteristik morfologi dan pewarnaan Gram tidak secara langsung berkorelasi dengan tingkat pelarutan fosfat yang signifikan secara statistik antar isolat dalam penelitian ini ($p > 0.05$) (Kaur & Kaur, 2020; Li *et al.*, 2022). Namun, kemampuan pelarutan fosfat ini tetap penting.

Produksi asam organik oleh bakteri pelarut fosfat tidak hanya berfungsi untuk melarutkan fosfat, tetapi juga dapat memodifikasi pH rizosfer.

Perubahan pH yang diinduksi oleh bakteri pelarut fosfat dapat memiliki efek domino, memengaruhi aktivitas enzim nitrogenase pada bakteri penambat nitrogen dan bahkan memengaruhi sintesis auksin oleh bakteri lain. Ini menggarisbawahi adanya jaringan interaksi yang kompleks dan saling mendukung di antara berbagai fungsi PGPR. Sebagai contoh, akar yang lebih berkembang akibat produksi auksin akan menyediakan lebih banyak situs bagi bakteri penambat nitrogen untuk berkolonisasi dan memfiksasi nitrogen atmosfer menjadi bentuk yang dapat diserap tumbuhan (amonium dan nitrat) (Meier *et al.*, 2020). Pada saat yang sama, bakteri pelarut fosfat akan bekerja melarutkan fosfat yang terikat di tanah, melengkapi ketersediaan nutrisi.

Secara kolektif, ketiga aktivitas ini—produksi auksin, penambatan nitrogen, dan pelarutan fosfat—saling melengkapi dan bersinergi untuk meningkatkan produktivitas tumbuhan secara holistik dan berkelanjutan. Auksin meningkatkan arsitektur akar untuk penyerapan nutrisi yang lebih baik, nitrogen menyediakan unsur hara makro esensial untuk pertumbuhan biomassa, dan fosfat memastikan ketersediaan energi serta transfer genetik yang optimal (Hu *et al.*, 2021). Sinergi ini adalah kunci keberhasilan PGPR sebagai agen biostimulan, dan variasi dalam karakteristik isolat seperti Gram negatif vs. Gram positif, bentuk basil vs. streptobasil dapat menjelaskan perbedaan efisiensi yang diamati dalam setiap fungsi.

Dalam konteks pengembangan biofertilizer, isolat K1 menonjol sebagai kandidat paling menjanjikan karena kemampuan ganda yang superior dalam memproduksi IAA dan menambat nitrogen, didukung oleh karakteristik Gram negatif dan bentuk basil yang adaptif. Meskipun isolat K4 (streptobasil, Gram positif) memiliki IPF tertinggi, kombinasi isolat-isolat dengan kemampuan terbaik, seperti K1 untuk IAA dan nitrogen, serta K4 untuk fosfat, dapat menghasilkan formulasi pupuk hayati yang lebih komprehensif dan efektif. Formulasi pupuk hayati berbasis PGPR ini menawarkan alternatif ramah lingkungan yang signifikan untuk mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia sintetis, memperbaiki kualitas

lahan pertanian secara berkelanjutan, dan mendukung pertanian yang lebih produktif, terutama di lahan margi



BAB V

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

- 1) Isolat K1 memiliki perwanaan Gran negatif, sementara K2, K3, K4, K5, dan K6 menunjukkan variasi dalam bentuk koloni, pewarnaan Gram, dan hasil uji biokimia pada PGPR dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh).
- 2) Isolat K1 menunjukkan kemampuan produksi IAA tertinggi (1.275,61 ppm) pada inkubasi 24 jam, dengan isolat K1 memiliki konsentrasi nitrogen tertinggi (3,18 ppm), Semua isolat juga menunjukkan potensi untuk melarutkan fosfat, dengan isolat K4 memiliki Indeks Pelarutan Fosfat tertinggi (3,30 mm), meskipun tidak ada perbedaan signifikan antar isolat. Temuan ini menunjukkan bahwa bakteri PGPR dari rizosfer bambu (*Bambusa spinosa* Roxburgh) memiliki potensi yang signifikan untuk meningkatkan pertumbuhan tumbuhan melalui mekanisme penghasil auksin, penambahan nitrogen, dan pelarutan fosfat.

5.2 Saran

Dengan melihat simpulan diatas, maka ada beberapa saran dari peneliti yakni sebagai berikut:

- 1) Saran Bagi Akademik:

Disarankan untuk mengembangkan riset lebih lanjut mengenai potensi PGPR dari rizosfer bambu, terutama dalam konteks aplikasi praktisnya sebagai biofertilizer yang dapat mengurangi ketergantungan pada pupuk kimia.

- 2) Saran Bagi Peneliti:

Peneliti selanjutnya diharapkan dapat mengeksplorasi lebih dalam keragaman karakteristik PGPR dari tumbuhan lain serta menguji kombinasi isolat PGPR untuk meningkatkan efektivitas dalam menambat nitrogen, menghasilkan auksin, dan melarutkan fosfat.

- 3) Saran Bagi Peneliti Selanjutnya:

Peneliti selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi terhadap isolat bakteri dan melakukan uji lapangan guna memverifikasi efektivitas PGPR dalam

meningkatkan produktivitas tumbuhan, khususnya pada kondisi tanah marginal dan dalam menghadapi stres lingkungan.



DAFTAR PUSTAKA

- Abid, A., & Ahmed, A. 2018. Microbial IAA: spectral analysis and application to modulate growth of *Triticum aestivum*. *RADS Journal of Biological Research & Applied Sciences*, **9**(2), 53-63.
- Ai, N. S., & Ludong, D. P. M. 2023. *Mikroba Rizosfer pada Tumbuhan saat Kekeringan*. Manado: Unsrat Press.
- Al Banna, M. Z., & Arifuddin, W. 2021. Potensi Bakteri Asal Bambu dalam Memproduksi Asam Indol Asetat (IAA). *AGROSAINSTEK: Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pertanian*, **5**(1), 72–80.
- Ahemad, M., & Kibret, M. 2014. Mechanisms and applications of plant growth promoting rhizobacteria: current perspective. *Journal of King saud University-science*, **26**(1), 1-20.
- Alfiansyah, M. F., Zulkifli, L., & Rasmi, D. A. C. 2023. The Effect of Phosphate-Solubilizing Bacteria and IAA Producers from Cactus Rhizosphere on the Germination of *Vigna sinensis* L. *Jurnal Biologi Tropis*, **23**(3), 607–618.
- Ali, B., Sabri, A. N., Ljung, K., & Hasnain, S. 2009. Auxin production by plant associated bacteria: impact on endogenous IAA content and growth of *Triticum aestivum* L. *Letters in Applied Microbiology*, **48**(5), 542–547.
- Andoko, A. 2003. *Budidaya Rebuffing Bambu*. Yogyakarta: Kanisius
- Ankardiansyah, P. P., Munif, A., & Supramana, S. 2016. Bakteri Endofit Asal Berbagai Akar Tumbuhan sebagai Agens Pengendali Nematoda Puru Akar *Meloidogyne incognita* pada Tomat. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*, **12**(3), 75.
- Anugrah, F. A., Fanany, R., Putra, S. A., Masita, R., & Safitri, D. Y. 2021. Indole acetic acid (IAA) hormone production by endophytic bacteria isolate from Cinchona plant (*Cinchona ledgerina* Moens.) root. In AIP Conference Proceedings, **2353**(1). AIP Publishing.
- Amrullah, S., Amin, M., & Ali, M. 2021. Converting husbandry waste into liquid organic fertilizer using probiotic consortiums (*Lactobacillus* sp., *Rhodopseudomonas* sp., *Actinomyces* sp., *Streptomyces* sp.). IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, **679**(1), 012001.
- Ariyani, M. D., Dewi, T. K., Pujiyanto, S., & Supriyadi, A. 2021. Isolasi dan karakterisasi plant growth promoting rhizobacteria dari perakaran kelapa sawit pada lahan gambut. *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, **23**(2), 159-171.
- Asfar, A. M. I. A., Mukhsen, M. I., Rifai, A., Asfar, A. M. I. T., Asfar, A. H., Kurnia, A., Budianto, E., & Syaifullah, A. 2022. Pemanfaatan Akar Bambu sebagai Biang Bakteri Perakaran PGPR di Desa Latellang. *JMM Jurnal Masyarakat Mandiri*, **6**(5), 3954-3963.

- Asrul Nyoman, I., Aryantha, P., Pertanian, P., & Kupang, N. 2021. Asrul & I Nyoman Pugeg Aryantha, 2021. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Untuk Pembuatan Biofertilizer. *Journal Viabel Pertanian*, **15**(1), 16–23.
- Ayesha, C., Advinda, L., Violita, V., & Handayani, D. 2023. Potential Of *Pseudomonas fluorescens* As Plant Growth Promoting Bacteria. *Jurnal Serambi Biologi*, **8**(1), 98-103.
- Aziz, K., & Nazir, J. 2015. Isolation, characterization and effect of auxin producing bacteria on growth of triticum aestivum. In *Article in The Journal of Animal and Plant Sciences*. **25**(4): 1003-1007
- Aziza, A. 2022. Effect of Long Sowning in Urine Cow (Auxin) and Number of Books on Growth of Thoughtful Bamboo Cuttings (*Gigantochloa nigrociliata* (Büse) Kurz.). *Contributions of Central Research Institute for Agriculture*, **16**(1), 16–20.
- Bachtiar, R. A., Rifki, M., Nurhayat, Y. R., Wulandari, S., Kutsiadi, R. A., Hanifa, A., & Cahyadi, M. 2018. Komposisi unsur hara kompos yang dibuat dengan bantuan agen dekomposer limbah bioetanol pada level yang berbeda. *Sains Peternakan: Jurnal Penelitian Ilmu Peternakan*, **16**(2), 63-68.
- Backer, R., Rokem, J. S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., ... & Smith, D. L. 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in plant science*, **9**, 1473.
- Bahri, S., Merismon, M., & Sutejo, S. 2020. Pemanfaatan Biochar dan Pupuk Kandang Ayam pada Pertumbuhan Jagung Hibrida di Tanah Ultisol. *Jurnal Galung Tropika*, **9**(2), 115-123.
- Bahuguna, V., Bhatt, G., Maikhuri, R., & Chandra, D. 2021. Nitrogen Fixation Through Genetic Engineering: A Future Systemic Approach of Nitrogen Fixation. *Microbial Metatranscriptomics Belowground*, 109-122.
- Bambang, A. G. 2014. Analisis cemaran bakteri coliform dan identifikasi *Escherichia coli* pada air isi ulang dari depot di Kota Manado. *Pharmakon*, **3**(3), 2302 -2493.
- Bharucha, U., Patel, K., & Trivedi, U. B. 2013. Optimization of indole acetic acid production by *Pseudomonas putida* UB1 and its effect as plant growth-promoting rhizobacteria on mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural research*, **2**, 215-221.
- Bhat, M. A., Mishra, A. K., Jan, S., Bhat, M. A., Kamal, M. A., Rahman, S., & Jan, A. T. 2023. Plant growth promoting rhizobacteria in plant health: a perspective study of the underground interaction. *Plants*, **12**(3), 629.
- Boyd, E. S., & Peters, J. W. 2013. New insights into the evolutionary history of biological nitrogen fixation. *Frontiers in microbiology*, **4**, 201.

- Bouizgarne, B., Bakki, M., Boutasknit, A., Banane, B., El Ouarrat, H., Ait El Maalem, S., & Meddich, A. 2023. Phosphate and potash solubilizing bacteria from Moroccan phosphate mine showing antagonism to bacterial canker agent and inducing effective tomato growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, **14**, 970382.
- Burén, S., Jiang, X., López-Torrejón, G., Echavarri-Erasun, C., & Rubio, L. M. 2017. Purification and in vitro activity of mitochondria targeted nitrogenase cofactor maturase NifB. *Frontiers in Plant Science*, **8**, 1567.
- Cappuccino, J. G., & Sherman, N. 2014. *Manual laboratorium mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Cahyani T., Ashifa, Muh. Ichsan Putrayani, Hasrullah, Muh Ersyan, Tita Aulia S., and AbdulMollah Jaya. 2017. 'Teknologi Formulasi Rhizobakteria Berbasis Bahan Lokal Dalam Menunjang Bioindustri Pertanian Berkelanjutan'. *Hasanuddin Student Journal* **1** (1): 16–21.
- Charlton, S. G., Kurz, D. L., Geisel, S., Jimenez-Martinez, J., & Secchi, E. 2022. The role of biofilm matrix composition in controlling colony expansion and morphology. *Interface Focus*, **12**(6), 20220035.
- Chen, B., Luo, S., Wu, Y., Ye, J., Wang, Q., Xu, X., Pan, F., Khan, K. Y., Feng, Y., & Yang, X. 2017. The effects of the endophytic bacterium *Pseudomonas fluorescens* Sasm05 and IAA on the plant growth and cadmium uptake of *Sedum alfredii* Hance. *Frontiers in Microbiology*, **8**, 2538.
- Chennappa, G., Sreenivasa, M. Y., & Nagaraja, H. 2018. *Azotobacter salinestris*: a novel pesticide-degrading and prominent biocontrol PGPR bacteria. *Microorganisms for Green Revolution: Volume 2: Microbes for Sustainable Agro-Ecosystem*, **7**, 23–43.
- Constantia, J., & Ferniah, R. S. 2020. Vegetative growth of rainbow chili (*Capsicum annum* L.) in the treatment of pgpr (plant growth promoting rhizobacteria), PGPR-NPK fertilizer, and PGPR-compost combination. *Agric*, **32**(2), 95-104.
- Cordova-Rodriguez, A., Rentería-Martínez, M. E., López-Miranda, C. A., Guzmán-Ortíz, J. M., & Moreno-Salazar, S. F. 2022. Simple and sensitive spectrophotometric method for estimating the nitrogen-fixing capacity of bacterial cultures. *MethodsX*, **9**, 101917.
- Danapriatna, N. 2010. Biokimia penambatan nitrogen oleh bakteri non simbiotik. *Cefars: jurnal agribisnis dan pengembangan wilayah*, **1**(2), 1-10.
- Darwis, A., & Iswanto, A. H. 2018. Morphological Characteristics of *Bambusa vulgaris* and the Distribution and Shape of Vascular Bundles therein. *Journal of the Korean Wood Science and Technology*, **46**(4), 315-322.
- Dewi, A. K., Meylina, L., & Rusli, R. 2017. Isolasi bakteri dari tanah mangrove *Rhizopora* sp. di kota bontang. In *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* **5**(24), 59-68.

- Dewi, T. K., Arum, E. S., Imamuddin, H., & Antonius, S. 2015. Karakterisasi mikroba perakaran (PGPR) agen penting pendukung pupuk organik hayati. In *Prosiding Seminar Nasional Masyi Biodiv Indonesia* 1(2). 289-295.
- Dewi, P. R., & Trimulyono, G. 2024. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen dari Rizosfer Tumbuhan Nanas di Lereng Gunung Kelud Kediri. *LenteraBio: Berkala Ilmiah Biologi*, 13(1), 73-85.
- Fatimah, F., Millah, A. I., Fadilah, R. L. A., Salsabila, S., Ramly, Z. A., Sugiarti, T., & Affandi, M. 2022. Isolation and potency test of endophytic bacteria as nitrogen fixer from mangrove plant in Lamongan. *Jurnal Riset Biologi dan Aplikasinya*, 4(1), 26-33.
- Fitri, N. F., Okalia, D., & Nopsagiarti, T. 2020. Uji konsentrasi PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobakteri) asal akar bambu dalam meningkatkan pertumbuhan dan produksi tumbuhan jagung (*Zea mays* L) pada tanah ultisol. *Green Swarnadwipa: Jurnal Pengembangan Ilmu Pertanian*, 9(2), 285-293.
- Garcia-Sanchez, M., Bertrand, I., Barakat, A., Zeroual, Y., Oukarroum, A., & Plassard, C. 2023. Improved rock phosphate dissolution from organic acids is driven by nitrate assimilation of bacteria isolated from nitrate and CaCO₃-rich soil. *PLoS One*, 18(3), e0283437.
- Glick, B. R. 2012. Plant growth-promoting bacteria: mechanisms and applications. *Scientifica*, 2012(1), 963401.
- Gordon, S. A., & Weber, R. P. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192.
- Goswami, M., & Deka, S. 2020. Plant growth-promoting rhizobacteria—alleviators of abiotic stresses in soil: A review. In *Pedosphere* 30(1), 40–61. Soil Science Society of China
- Grover, M., Bodhankar, S., Sharma, A., Sharma, P., Singh, J., & Nain, L. 2021. PGPR mediated alterations in root traits: way toward sustainable crop production. *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 4, 618230.
- Handayanto, E., Muddarisna, N., & Fiqri, A. 2017. *Pengelolaan kesuburan tanah*. Universitas Brawijaya Press.
- Handayani, W., Munir, M., & Hidayati, I. 2020, Pengelompokan isolat bakteri penghasil hormon IAA (indole acetic acid) dari tanah rizosfer bawang merah (*Allium cepa*) di Nganjuk dengan variasi wilayah yang berbeda. In *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 6(1), 183-190.
- Hardiansyah, MY, Musa, Y., & Jaya, AM 2020. Identifikasi rizobakteri pemacu pertumbuhan tumbuhan dari rizosfer bambu berduri dengan uji gram KOH 3% dan uji pewarnaan gram. *Jurnal Internasional Biologi Terapan* , 4 (2), 7-17.
- Hartono, H. P., Rokhim, S., & Faizah, H. 2024. Pengaruh Pemberian PGPR *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. Asal Akar Bambu Apus terhadap Pertumbuhan

- tanaman Jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Ilmiah Membangun Desa Dan Pertanian*, **9**(3), 294-303.
- Hanafi, A., Purwantisari, S., & Raharjo, B. 2017. Uji potensi bakteri endofit kitinolitik tumbuhan padi (*Oryza sativa* L.) sebagai penghasil hormon IAA (Indole Acetic Acid). *Bioma: Berkala Ilmiah Biologi*, **19**(1), 76-82.
- Haruta, S., Kato, S., Nakamura, K., & Nishizawa, T. 2004. Effect of Ammonium Ion on the pH Dependence of Hydrogen Oxidation Activity and The Structure of The Microbial Community in A Microbial Fuel Cell. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, **98**(1), 22-27.
- Harley, J. P., 2005. *Laboratory Exercises in Microbiology*, Sixth Edition. New York: The McGraw-Hill Companies
- Herlina, L., Pukan, K. K., & Mustikaningtyas, D. 2016. Kajian bakteri endofit penghasil IAA (Indole Acetic Acid) untuk pertumbuhan tumbuhan. *J. FMIPA, Universitas Negeri Semarang*, **14**(1), 51-58.
- Hernández-Mendoza, J. L. 2022. The Indole acetic acid in bacteria, fungi and plants. *Journal of Plant Science and Phytopathology*, **6**(3), 161-162.
- Hingole, S. S., & Pathak, A. P. 2016. Saline soil microbiome: A rich source of halotolerant PGPR. *Journal of crop Science and biotechnology*, **19**, 231-239.
- Hu, C., Zhao, H., Wang, W., Xu, M., Shi, J., Nie, X., & Yang, G. 2018. Identification of conserved and diverse metabolic shift of the stylar, intermediate and peduncular segments of cucumber fruit during development. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(1), 135.
- Hu, Q. Q., Shu, J. Q., Li, W. M., & Wang, G. Z. 2021. Role of auxin and nitrate signaling in the development of root system architecture. *Frontiers in Plant Science*, **12**, 690363.
- Huslina, F., & Harahap, D. 2019. Isolasi bakteri pengikat nitrogen dengan menggunakan media jensen. *Jurnal Agrotek Ummat*, **6**(2), 91-94.
- Ibrahim, J., Kiramang, K., & Irmawaty, I. 2017. Tingkat Cemaran Bakteri *Staphylococcus aureus* pada Daging Ayam yang Dijual Di Pasar Tradisional Makassar. *Jurnal Ilmu dan Industri Peternakan*, **3**(3), 169-181.
- Ichwan, B., Novita, T., Eliyanti, E., & Masita, E. 2021. Aplikasi Berbagai Jenis Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dalam Meningkatkan Pertumbuhan dan Hasil Cabai Merah. *Jurnal Media Pertanian*, **6**(1), 1-7.
- Jannah, M., Jannah, R., & Fahrunsyah, F. 2022. Kajian literatur: penggunaan plant growth promoting Rhizobacteria (PGPR) untuk meningkatkan pertumbuhan dan mengurangi pemakaian pupuk anorganik pada tumbuhan pertanian. *Jurnal Agroekoteknologi Tropika Lembab*, **5**(1), 41-49.
- Jilani, G., Zhang, D., Chaudhry, A. N., Iqbal, Z., Ikram, M., & Bashir, M. 2021. Role of phosphate-solubilising microorganisms in agricultural development.

Plant growth-promoting microbes for sustainable biotic and abiotic stress management, 463-483

- Kaewchomphunuch, T., Charoenpichitnunt, T., Thongbaiyai, V., Ngamwongsatit, N., & Kaeoket, K. 2022. Cell-free culture supernatants of *Lactobacillus* spp. and *Pediococcus* spp. inhibit growth of pathogenic *Escherichia coli* isolated from pigs in Thailand. *BMC veterinary research*, **18**(1), 60.
- Kaushal, R., Singh, I., Thapliyal, SD, Gupta, AK, Mandal, D., Tomar, JMS, & Durai, J. 2020. Perilaku perakaran dan sifat tanah pada berbagai spesies bambu di Kaki Bukit Himalaya Barat, India. Laporan ilmiah , **10** (1), 4966.
- Kaur, R., & Kaur, S. 2020. Variation in the phosphate solubilizing bacteria from virgin and the agricultural soils of Punjab. *Current microbiology*, **77**(9), 2118-2127.
- KC, B. M., Gauchan, D. P., Khanal, S. N., & Lamichhane, J. 2022. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from bamboo rhizosphere and their role in plant growth promotion. *Nepal Journal of Science and Technology*, **21**(1), 1-12.
- Khan, N., Bano, A., & Zandi, P. 2018. Effects of exogenously applied plant growth regulators in combination with PGPR on the physiology and root growth of chickpea (*Cicer arietinum*) and their role in drought tolerance. *Journal of Plant Interactions*, **13**(1), 239–247.
- Kristianti, D., Siahaan, P., & Tangapo, A. M. 2023. Karakterisasi dan Uji Produksi IAA Bakteri Rizosfer dari Tumbuhan Putri Malu (*Mimosa pudica* L.). *Jurnal Ilmu Alam dan Lingkungan*, **14**(2).
- Kumari, Y., & Bhardwaj, D. R. 2017. Effect of various bamboo species on soil nutrients and growth parameters in Mid hills of HP, India. *International Journal of Chemical Studies*, **5**(4), 19-24.
- Kurniati, S. 2018. Skrining dan Identifikasi Bakteri Penghasil Hormon Indole-3 Acetid Acid (IAA) Daerah Perakaran Padi (*Oryza Sativa*) di kelurahan Balang Kecamatan Binamu Kabupaten Jeneponto (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar). Skripsi. UIN Alauddin Makassar.
- Kusuma, M. E. 2013. Pengaruh pemberian bokashi terhadap pertumbuhan vegetatif dan produksi rumput gajah (*Pennisetum purpureum*). *Jurnal Ilmu Hewani Tropika (Journal of Tropical Animal Science)*, **2**(2), 40-45.
- Leghari, S. J., Wahocho, N. A., Laghari, G. M., HafeezLaghari, A., MustafaBhabhan, G., HussainTalpur, K., & Lashari, A. A. 2016. Role of nitrogen for plant growth and development: A review. *Advances in Environmental Biology*, **10**(9), 209-219.
- Lehar, L., Arifin, Z., & Sine, H. M. 2018. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) Dalam Meningkatkan Pola Pertumbuhan Bawang

- Merah Lokal (*Allium Ascalonicum* L) Sabu Raijua NTT. *Partner*, **23**(1), 646-656.
- Lengkong, S. C., Siahaan, P., & Tangapo, A. M. 2022. Analisis karakteristik dan uji bioaktivitas bakteri rizosfer PGPR (plant growth promoting rhizobacteria) isolat kalasey. *Jurnal Bios Logos*, **12**(2), 104-113.
- Li, J., Li, C., & Smith, S. M. 2017. Hormone metabolism and signaling in plants. Academic press.
- Li, L., Xia, T., & Yang, H. 2022. Seasonal patterns of rhizosphere microorganisms suggest carbohydrate-degrading and nitrogen-fixing microbes contribute to the attribute of full-year shooting in woody bamboo *Cephalostachyum pingbianense*. *Frontiers in Microbiology*, **13**, 1033293.
- Li, M., Guo, R., Yu, F., Chen, X., Zhao, H., Li, H., & Wu, J. 2018. Indole-3-acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *Arthrobacter pascens* ZZ21. *International Journal of Molecular Sciences*, **19**(2), 443.
- O'Sullivan, C. A., Duncan, E. G., Whisson, K., Treble, K., Ward, P. R., & Roper, M. M. 2017. A colourimetric microplate assay for simple, high throughput assessment of synthetic and biological nitrification inhibitors. *Plant and Soil*, **413**, 275-287.
- Oksana, M. I., Fianiray, A. R., & Zam, S. I. 2020. Isolasi dan identifikasi bakteri pelarut fosfat pada tanah ultisol di Kecamatan Rumbai, Pekanbaru. *Agrotechnology Research Journal*, **4**(1), 22-25.
- Oktari, A., Supriatin, Y., Kamal, M., & Syafrullah, H. 2017. The bacterial endospore stain on Schaeffer Fulton using variation of methylene blue solution. In *Journal of Physics: Conference Series* **812**(1), 012066. IOP Publishing.
- Olanrewaju, O. S., Glick, B. R., & Babalola, O. O. 2017. Mechanisms of action of plant growth promoting bacteria. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **33**(11), 197.
- Madigan, A. P., Egidio, E., Bedon, F., Franks, A. E., & Plummer, K. M. 2019. Bacterial and fungal communities are differentially modified by melatonin in agricultural soils under abiotic stress. *Frontiers in Microbiology*, **10**, 2616.
- Mahmud, K., Makaju, S., Ibrahim, R., & Missaoui, A. 2020. Current progress in nitrogen fixing plants and microbiome research. *Plants*, **9**(1), 97..
- Manurung, L., Asnawati, A., & Purwaningsih, P. 2023. Pengaruh Pemberian PGPR pada Beberapa Komposisi Media Tanam Terhadap Pertumbuhan Setek Lada. *Jurnal Sains Pertanian Equator*, **12**(2), 229-236.
- Marciano Marra, L., Fonsêca Sousa Soares, C. R., de Oliveira, S. M., Avelar Ferreira, P. A., Lima Soares, B., de Fráguas Carvalho, R., & de Souza Moreira, F. M. 2012. Biological nitrogen fixation and phosphate solubilization by bacteria isolated from tropical soils. *Plant and soil*, **357**(03), 289-307.

- Martínez-Dalmau, J., Berbel, J., & Ordóñez-Fernández, R. 2021. Nitrogen fertilization. A review of the risks associated with the inefficiency of its use and policy responses. *Sustainability*, **13**(10), 5625.
- Mehmood, U., Inam-ul-Haq, M., Saeed, M., Altaf, A., Azam, F., & Hayat, S. 2018. A brief review on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a key role in plant growth promotion. *Plant Prot*, **2**(2), 77-82.
- Meier, M., Liu, Y., Lay-Pruitt, K. S., Takahashi, H., & von Wirén, N. 2020. Auxin-mediated root branching is determined by the form of available nitrogen. *Nature Plants*, **6**(9), 1136-1145.
- Mindari, W., Widjajani, B. W., & Priyadarsini, R. 2018. Kesuburan tanah dan pupuk. *Yogyakarta: Gosyen Publishing*.
- 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.
- Moreira, G., & Bomfim, C. A. 2024. Plant growth-promoting microorganisms: Ecology and use in sustainable agricultural systems. *Microbial Technology for Agro-Ecosystems*, 233-261.
- Natalie Fitriatin, Betty, Florencia Manurung, D., Trinurani Sofyan, E., & Rochimi Setiawati, M. 2020. Compatibility, Phosphate Solubility and Phosphatase Activity by Phosphate Solubilizing Bacteria. *Haya: The Saudi Journal of Life Sciences*, **5**(12), 281–284.
- Niswati, A., Yusnaini, S., & Arif, M. A. S. 2008. Populasi mikroba pelarut fosfat dan P-tersedia pada rizosfir beberapa umur dan jarak dari pusat perakaran jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Tanah Tropika*, **13**(2), 123-130.
- Nugraha, E., Noertjahyani, N., & Parlinah, L. 2023. Pengaruh Konsentrasi Pgpr (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) Terhadap Pertumbuhan Dan Hasil Tumbuhan Kangkung (*Ipomoea Reptans* Poir) Varietas Bika. *OrchidAgro*, **3**(1), 12-19.
- Muindi, E. D. M. 2019. Understanding soil phosphorus. *International Journal of Plant & Soil Science*, **31**(2), 1-18.
- Nurosid, O., & Lestari, P. 2008. Kemampuan *Azospirillum* sp. JG3 dalam Menghasilkan Lipase pada Medium Campuran Dedak dan Onggok dengan Waktu Inkubasi berbeda. *Universitas Soedirman, Purwokerto*.
- Parvin, W., Othman, R., Jaafar, H., Rahman, M., & Mui, W. 2015. Chromatographic detection of phytohormones from the bacterial strain UPMP3 of *Pseudomonas aeruginosa* and UPMB3 of *Burkholderia cepacia* and their role in oil palm seedling growth. *International Journal of Biotechnology Research*, **3**(5), 73-80.

- Patel, T., & Saraf, M. 2017. Exploration of Novel Plant Growth Promoting Bacteria *Stenotrophomonas maltophilia* MTP42 Isolated from the Rhizospheric Soil of *Coleus Forskohlii*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6**(11), 944–955.
- Pambudi, A., Susanti, S., & Priambodo, T. W. 2017. Isolasi dan karakterisasi bakteri tanah sawah di Desa Sukawali dan Desa Belimbing, Kabupaten Tangerang. *Al-Kauniyah*, **10**(2), 105-113.
- Pane, R. D. P., Ginting, E. N., & Hidayat, F. (2022). Mikroba pelarut fosfat dan potensinya dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman. *Warta Pusat Penelitian Kelapa Sawit*, **27**(1), 51-59.
- Pratiwi, F. 2017. Marlina dan Mariana. 2017. Pengaruh pemberian Plant Growth Promoting Rhizobakteria (PGPR) dari akar bambu terhadap pertumbuhan dan hasil bawang merah (*Allium ascalonicum* L.). *Jurnal Agrotropika Hayati*, **4**(2), 11–21.
- Pratiwi, E., Satwika, T. D., Akhdiya, A., & Agus, F. 2020. Karakterisasi bakteri asal lahan gambut jambi dan potensinya sebagai pupuk hayati. *Jurnal Tanah dan Iklim*, **44**(1), 1-10.
- Prihanto, A. A., Timur, H. D. L., Jaziri, A. A., Nurdiani, R., & Pradarameswari, K. A. 2018. Isolasi dan identifikasi bakteri endofit mangrove *Sonneratia alba* penghasil enzim gelatinase dari Pantai Sendang Biru, Malang, Jawa Timur. *Indonesia Journal of Halal*, **1**(1), 31-42.
- Putra, G. W., Ramona, Y., & Proborini, M. W. 2020. Eksplorasi Dan Identifikasi Mikroba Pada Rhizosfer Tumbuhan Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) Di Kawasan Pancasari Bedugul. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, **7**(2), 62.
- Rahma, H., Nurbailis, & Kristina, N. 2021. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): As a Potential Biocontrol for *Curvularia lunata* Invitro. *Journal of Physics: Conference Series*, **1940**(1).
- Rahman, A., Rusmini, R., & Daryono, D. 2022. Isolasi Dan Karakterisasi Morfologi Bakteri Dekomposer Limbah Kulit Udang Dan Limbah Kelapa. *Median: Jurnal Ilmu Eksakta*, **14**(3), 120-129.
- Raj, D. P. R. S., Linda, R., & Babyson, R. S. 2014. Molecular characterization of phosphate solubilizing bacteria (PSB) and plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) from pristine soils. *Int J Innov Sci Eng Technol*, **1**, 317-324.
- Rawat, P., Das, S., Shankhdhar, D., & Shankhdhar, S. C. 2021. Phosphate-solubilizing microorganisms: mechanism and their role in phosphate solubilization and uptake. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **21**(1), 49–68.

- Rini, I. A., Oktaviani, I., Asril, M., Agustin, R., & Frima, F. K. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Penghasil IAA (Indole Acetic Acid) dari Rhizosfer Tumbuhan Akasia (*Acacia mangium*). *Agro Bali: Agricultural Journal*, **3**(2), 210-219.
- Rizqiyah, N., Zulkifli, L., & Ramdani, A. 2022. Isolation of endophytic bacteria from the roots of *Gliricidia sepium* and their ability as IAA-producing bacteria and phosphate solubilizers. *Jurnal Biologi Tropis*, **22**(3), 723-731.
- Rover, R., Mayerni, R. 2019. Isolation and Characterization of Endofytic Bacteria Indigenus Potentially Producing IAA (Indole Acetic Acid) in West Sumatera and Their Effect on Nursery Palm Oil (*Elaeis guineensis* jacq). *Journal of Applied Agricultural Science and Technology*, **3**(2), 257–267.
- Roxburgh, W. 1814. *Hortus Bengalensis, or, A catalogue of the plants growing in the Honourable East India Company's Botanic Garden at Calcutta* pp. 1-300. Serampore: printed at the Mission Press.
- Schoch, R. R., & Sues, H. D. 2018. A new lepidosauromorph reptile from the Middle Triassic (Ladinian) of Germany and its phylogenetic relationships. *Journal of Vertebrate Paleontology*, **38**(2), e1444619.
- Sallami, A., Rachidi, F., Lahsini, A. I., Khedri, H. El, Douira, A., Modafar, C. El, Medraoui, L., & Filali-Maltouf, A. 2023. Plant Growth Promoting (PGP) Performances and Diversity of Bacterial Species Isolated from Olive (*Olea europaea* L.) Rhizosphere in Arid and Semi-arid Regions of Morocco. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, **17**(4), 2165–2179.
- Shen, M. C., Zhang, Y. Z., Bo, G. D., Yang, B., Wang, P., Ding, Z. Y., & Yuan, X. L. 2022. Microbial responses to the reduction of chemical fertilizers in the rhizosphere soil of flue-cured tobacco. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, **9**, 812316.
- Sonia, A. V., & Setiawati, T. C. 2022. Aktivitas bakteri pelarut fosfat terhadap peningkatan ketersediaan fosfat pada tanah masam. *Agrovigor: Jurnal Agroekoteknologi*, **15**(1), 44-53.
- Suparnorampus, S., Pata'dungan, Y. S., & Rois, R. 2020. Eksplorasi Bakteri Pelarut Fosfat Pada Berbagai Tumbuhan Industri Dan Hortikultura Di Dataran Tinggi Napu. *AGROTEKBIS: JURNAL ILMU PERTANIAN (e-journal)*, **8**(1), 25-31.
- Suwatno, A. M. W. Y. 2012. Eksplorasi Bakteri Penambat Nitrogen dan Bakteri Pelarut Fosfat pada Tanah Gambut di Provinsi Kalimantan Timur (Doctoral dissertation, UNIVERSITAS AIRLANGGA).
- Yu, S. S., Latt, Z. K., Kyaw, E. P., & Ly, T. M. 2011. Accumulation of ammonia in culture broth by wild-type nitrogen-fixing bacterium, *Stenotrophomonas maltophilia*. **2**(1): 72-77.

- Santi, D. M., Mulyaningsih, T., & Aryanti, E. 2019. Identifikasi Bambu di Sempadan Sungai Keremit Resort Joben Taman Nasional Gunung Rinjani Lombok. *Jurnal Biologi Tropis*, **19**(2), 239-249.
- Sapalina, F., Ginting, E. N., & Hidayat, F. 2022. Bakteri penambat nitrogen sebagai agen biofertilizer. *War. Pus. Penelit. Kelapa Sawit*, **27**(1), 41-50.
- Shailendra Singh, G. G. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*, **07**(02), 096-102.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*, **2** (587), 1-14.
- Sholihah, S. M., & Meidiantie, D. 2016. Pengaruh konsentrasi PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobakterium) terhadap pertumbuhan dan hasil tumbuhan selada (*Lactuca sativa* L.). *Jurnal Ilmiah Respati*, **7**(1), 1411-7126.
- Smercina, D. N., Evans, S. E., Friesen, M. L., & Tiemann, L. K. 2019. To fix or not to fix: controls on free-living nitrogen fixation in the rhizosphere. *Applied and Environmental Microbiology*, **85**(6), e02546-18.
- Soumare, A., Diedhiou, A. G., Thuita, M., Hafidi, M., Ouhdouch, Y., Gopalakrishnan, S., & Kouisni, L. 2020. Exploiting biological nitrogen fixation: a route towards a sustainable agriculture. *Plants*, **9**(8), 1011.
- Steer, J., & Harris, J. A. 2000. Shifts in the microbial community in rhizosphere and non-rhizosphere soils during the growth of *Agrostis stolonifera*. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**(6), 869–878.
- Sugianto, S. K., Shovitri, M., & Hidayat, H. 2019. Potensi rhizobakteri sebagai pelarut fosfat. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, **7**(2), 71–74.
- Sukweenadhi, J., Purwanto, M. G. M., Hardjo, P. H., Kurniawan, G., & Artadana, I. B. M. 2019. Isolation and in vitro screening of plant growth promoting rhizobacteria from Barak Cenana red rice. In *AIP conference proceedings*, **2155**(1). AIP Publishing.
- Suliasih, S., & Widawati, S. 2017. *Laboratory and greenhouse assays of phosphate solubilizing rhizobacteria to improve growth of Falcataria moluccana seedling*.
- Sumarni, N., & Sumiati, E. 2001. Pengaruh vernalisasi, giberelin dan auksin terhadap pembungaan dan hasil biji bawang merah. *Jurnal Hortikultura*, **11**(1), 1–8.
- Susanti, W. I., Widyastuti, R., & Wiyono, S. 2015. Peranan tanah rhizosfer bambu sebagai bahan untuk menekan perkembangan patogen *Phytophthora palmivora* dan meningkatkan pertumbuhan bibit pepaya. *Jurnal Tanah dan Iklim*, **39**(2), 65-74.

- T. Nikitha, M. S., B. Sadhana, E. U. B. R., & Vani, S. S. 2017. Phosphorous and Phosphate Solubilising Bacteria and their Role in Plant Nutrition. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, **6**(4), 2133–2144.
- Tajini, F., Trabelsi, M., & Drevon, J. J. 2012. Combined inoculation with *Glomus intraradices* and *Rhizobium tropici* CIAT899 increases phosphorus use efficiency for symbiotic nitrogen fixation in common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Saudi Journal of Biological Sciences*, **19**(2), 157–163.
- Tangapo, A. M. 2020. Potensi Bakteri Endofit Ubi Jalar (*Ipomoea batatas* L.) dalam Menghasilkan Hormon Indole Acetic Acid (IAA) dengan Penambahan L-triptofan. *Jurnal Bios Logos*, **10**(1), 21-26.
- Torres-Rubio, M. G., Valencia-Plata, S. A., Bernal-Castillo, J., & Martínez-Nieto, P. 2000. Isolation of *Enterobacteria*, *Azotobacter* sp. and *Pseudomonas* sp., producers of indole-3-acetic acid and siderophores, from Colombian rice rhizosphere. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, **42**(4), 171–176.
- Tuhuteru, S., Sulistyaningsih, E., & Wibowo, A. 2019. Aplikasi plant growth promoting rhizobacteria dalam meningkatkan produktivitas bawang merah di lahan pasir pantai. *Jurnal Agronomi Indonesia (Indonesian Journal of Agronomy)*, **47**(1), 53–60.
- Ummah, R., Mahanani, T. S., & Pramita, Y. 2019. Potensi Isolat Bakteri Endofit Akar Tumbuhan Bawang Merah (*Allium ascalonicum*) sebagai Penambat Nitrogen. *Jurnal LenteraBio*, **8**(2), 143-149.
- Wagi, S., & Ahmed, A. 2019. *Bacillus* spp.: potent microfactories of bacterial IAA. *PeerJ*, **7**, e7258.
- Walida, H., Harahap, F. S., Hasibuan, M., & Yanti, F. F. 2019. Isolasi dan identifikasi bakteri penghasil IAA dan pelarut fosfat dari rhizosfer tumbuhan kelapa sawit. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan Industri Kesehatan)*, **6**(1), 1-7.
- Wang, F., Weil, R. R., & Nan, X. 2017. Total and permanganate-oxidizable organic carbon in the corn rooting zone of US Coastal Plain soils as affected by forage radish cover crops and N fertilizer. *Soil and Tillage Research*, **165**, 247–257.
- Wang, J., Liao, L., Wang, G., Liu, H., Wu, Y., Liu, G., & Zhang, C. 2022. N-induced root exudates mediate the rhizosphere fungal assembly and affect species coexistence. *Science of the Total Environment*, **804**, 150148.
- Wei, Y., Zhao, Y., Shi, M., Cao, Z., Lu, Q., Yang, T., Fan, Y., & Wei, Z. 2018. Effect of organic acids production and bacterial community on the possible mechanism of phosphorus solubilization during composting with enriched phosphate-solubilizing bacteria inoculation. *Bioresource Technology*, **247**, 190–199.
- Widjaja, E. A. 2018. *The spectacular Indonesian bamboos*. PT. Gudang Garam.

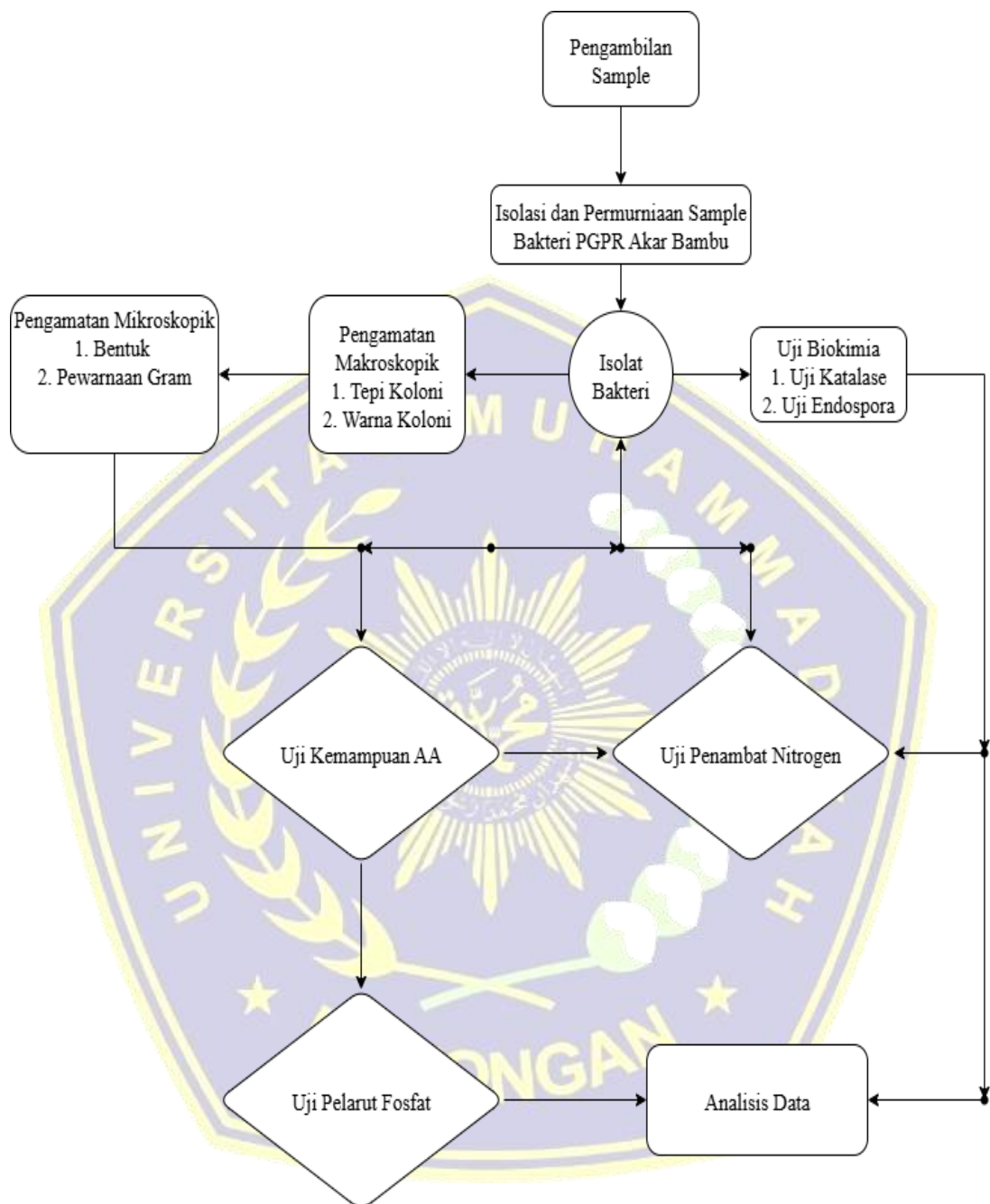
- Williams, A., & de Vries, F. T. 2020. Plant root exudation under drought: implications for ecosystem functioning. *New Phytologist*, **225**(5), 899-1905.
- Yani, A. P. 2012. Keanekaragaman dan Populasi Bambu di Desa Talang Pauh Bengkulu Tengah. *Jurnal Exacta*, **10**(1), 61–70.
- Yulistiana, E., Widowati, H., & Sutanto, A. 2020. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) dari akar bambu apus (*Gigantochola apus*) meningkatkan pertumbuhan tumbuhan. *Biolova*, **1**(1), 1–6.
- Zea Escamilla, E., Archilla, H., Nuramo, D. A., & Trujillo, D. 2019. Bamboo: An engineered alternative for buildings in the global south. In *Bioclimatic Architecture in Warm Climates: A Guide for Best Practices in Africa* 414 Cham: Springer International Publishing.
- Zehr, J. P., Capone, D. G., Zehr, J. P., & Capone, D. G. 2021. Fundamentals of N₂ Fixation. *Marine Nitrogen Fixation*, 9-29
- Zheng, P., Wang, R., Xu, S., Ye, Z., & Dai, C. 2016. Isolated culture device specific to microorganisms difficult to culture and method thereof.
- Zhou, D., Huang, X.-F., Chaparro, J. M., Badri, D. V., Manter, D. K., Vivanco, J. M., & Guo, J. 2016. Root and bacterial secretions regulate the interaction between plants and PGPR leading to distinct plant growth promotion effects. *Plant and Soil*, **401**, 259–272.

Lampiran 1. Jadwal Kegiatan

Berikut adalah jadwal penelitian dan tahap menyiapkan alat serta bahan untuk peneliti dalam meneliti isolasi dan karakterisasi bakteri

Jenis Kegiatan	Desember				Januari				Febuari				Maret				April				Mei
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	
Persiapan Alat & bahan	■																				
Pengambilan sampel		■																			
Proses isolasi bakteri			■																		
Pemurnian isolat bakteri					■	■															
Proses pengamatan secara makroskopis													■								
Perwarnaan Gram													■								
Uji Endospora													■								
Uji Katalase													■	■							
Seleksi bakteri penghasil auksin													■		■						
Pembuatan kurva standar IAA													■		■						
Uji kemampuan penghasil IAA													■		■						
Pembuatan kurva standar Nitrogen													■		■						
Uji Penambat Nitrogen													■		■						
Uji Pelarut Fosfat													■		■						
Analisis data													■		■						

Lampiran 2. Skema Kerja



Lampiran 3.1 Hasil karakterisasi Isolat

Isolat	Makroskopik		Mikroskopik		Uji Biokimia	
	Tepi	Warna	Bentuk	Gram	Katalase	Endospora
K1	<i>Filamentous</i>	Putih	Basil	-	+	-
K2	<i>Rhizoid</i>	Putih	Basil	+	+	-
K3	<i>Undulate</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K4	<i>Undulate</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K5	<i>Eentire</i>	Putih	Streptobasil	+	+	-
K6	<i>Lobate</i>	Putih	Basil	+	+	-

Keterangan :

- Pewarnaan Gram : Terdapat warna merah menunjukan Gram negatif (-), terdapat warna biru menunjukan Gram positif (+)
- Uji Katalase : Berbuih (+), Tidak Berbuih (-)
- Uji Endospora : Terdapat Endospora berwarna hijau (+), Tidak terdapat Endospora berwarna merah terang (-).

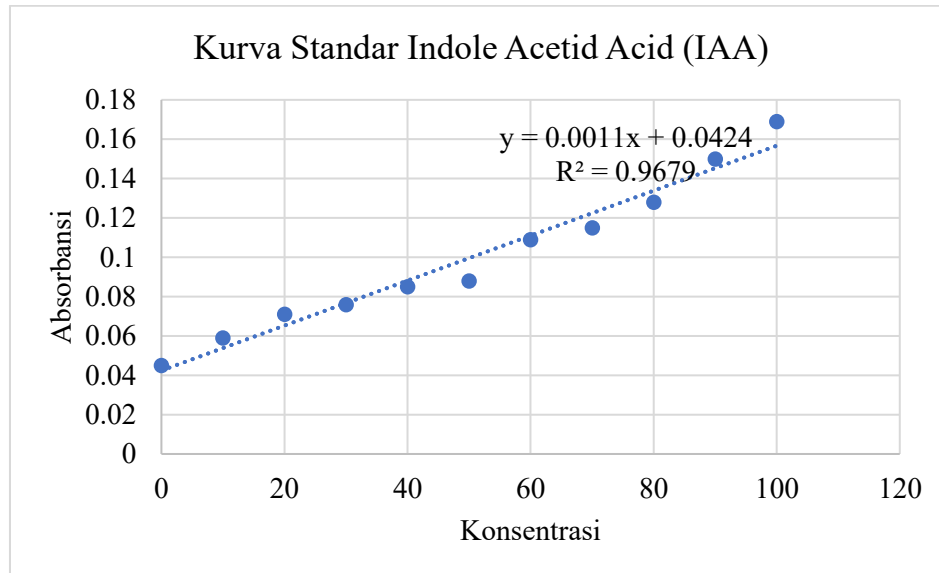


Lampiran 3.2 Tabel *Kurva Standar Indole Acetid Acid (IAA)* pada panjang gelombang 530 nm

Konsetrasi IAA	Absorbansinya
0	0,045
10 ppm	0,059
20 ppm	0,071
30 ppm	0,076
40 ppm	0,085
50 ppm	0,088
60 ppm	0,109
70 ppm	0,115
80 ppm	0,128
90 ppm	0,150
100 ppm	0,169



Lampiran 3.3 Kurva Standar *Indole Acetid Acid* (IAA) dengan persamaan $y = ax - b$



Lampiran 3.4 Tabel Pengamatan Seleksi Bakteri Penghasil IAA

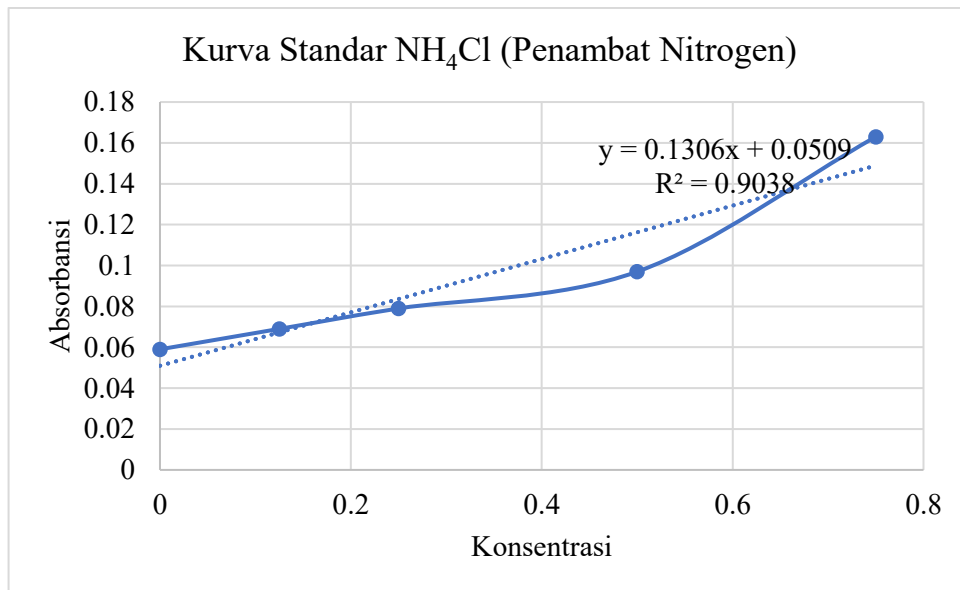
ISOLAT	Absorbansi (Y)	konsentrasi IAA 0 JAM	Absorbansi (Y)	konsentrasi IAA 24 JAM	Absorbansi (Y)	konsentrasi IAA 48 JAM	Absorbansi (Y)	konsentrasi IAA 72 JAM
K1.1	0,208	4,87	1,386	1.221,4	1,152	1.008,6	1,222	1.072,3
K1.2	0,221	5,17	1,542	1.363,2	1,299	1.142,3	1,25	1.097,7
K1.3	0,223	5,22	1,409	1.242,3	1,385	1.220,5	1,19	1.043,2
K2.1	0,211	4,94	0,208	150,5	0,213	155,0	0,228	168,6
K2.2	0,212	4,96	0,18	125,0	0,194	137,7	0,218	159,5
K2.3	0,223	5,22	0,187	131,4	0,214	155,9	0,246	185,0
K3.1	0,224	5,24	0,193	136,8	0,219	160,5	0,272	208,6
K3.2	0,216	5,06	0,208	150,5	0,221	162,3	0,235	175,0
K3.3	0,214	5,01	0,2	143,2	0,22	161,4	0,248	186,8
K4.1	0,24	5,62	0,196	139,5	0,205	147,7	0,259	196,8
K4.2	0,219	5,13	0,184	128,6	0,205	147,7	0,25	188,6
K4.3	0,28	6,56	0,202	145,0	0,197	140,5	0,242	181,4
K5.1	0,212	4,96	0,234	174,1	0,215	156,8	0,243	182,3
K5.2	0,204	4,77	0,303	236,8	0,204	146,8	0,252	190,5
K5.3	0,212	4,96	0,292	226,8	0,213	155,0	0,25	188,6
K6.1	0,213	4,99	0,203	145,9	0,187	131,4	0,231	171,4
K6.2	0,212	4,96	0,192	135,9	0,193	136,8	0,376	303,2
K6.3	0,222	5,20	0,183	127,7	0,214	155,9	0,335	265,9

Lampiran 3.5 Tabel Kurva Standar NH_4Cl (Penambat Nitrogen) pada panjang gelombang 420 nm

KONSENTRASI NH_4Cl	ABSORBANSINYA
0	0,059
0,125 ppm	0,069
0,25 ppm	0,079
0,5 ppm	0,097
0,75 ppm	0,163



Lampiran 3.6 Kurva Standar NH_4Cl (Penambat Nitrogen) $y = ax - b$



Lampiran 3.7 Tabel Pengamatan Seleksi Bakteri Penghasil Penambat Nitrogen

ISOLAT	Absorbansi (Y)	Konsentrasi Nitrogen
K1.1	0,484	3,32
K1.2	0,458	3,12
K1.3	0,458	3,12
K2.1	0,442	2,99
K2.2	0,449	3,05
K2.3	0,386	2,57
K3.1	0,29	1,83
K3.2	0,444	3,01
K3.3	0,359	2,36
K4.1	0,378	2,50
K4.2	0,359	2,36
K4.3	0,342	2,23
K5.1	0,202	1,16
K5.2	0,172	0,93
K5.3	0,212	1,23
K6.1	0,285	1,79
K6.2	0,204	1,17
K6.3	0,285	1,79

Isolat	1	2	3	Rata-rata	Standar deviasi
K1	3,316233	3,117152	3,117152	3,18	0,115
K2	2,99464	3,048239	2,56585	2,87	0,264
K3	1,830781	3,009954	2,359112	2,40	0,591
K4	2,504594	2,359112	2,228943	2,36	0,138
K5	1,156968	0,927259	1,233538	1,11	0,159
K6	1,792496	1,172282	1,792496	1,59	0,358

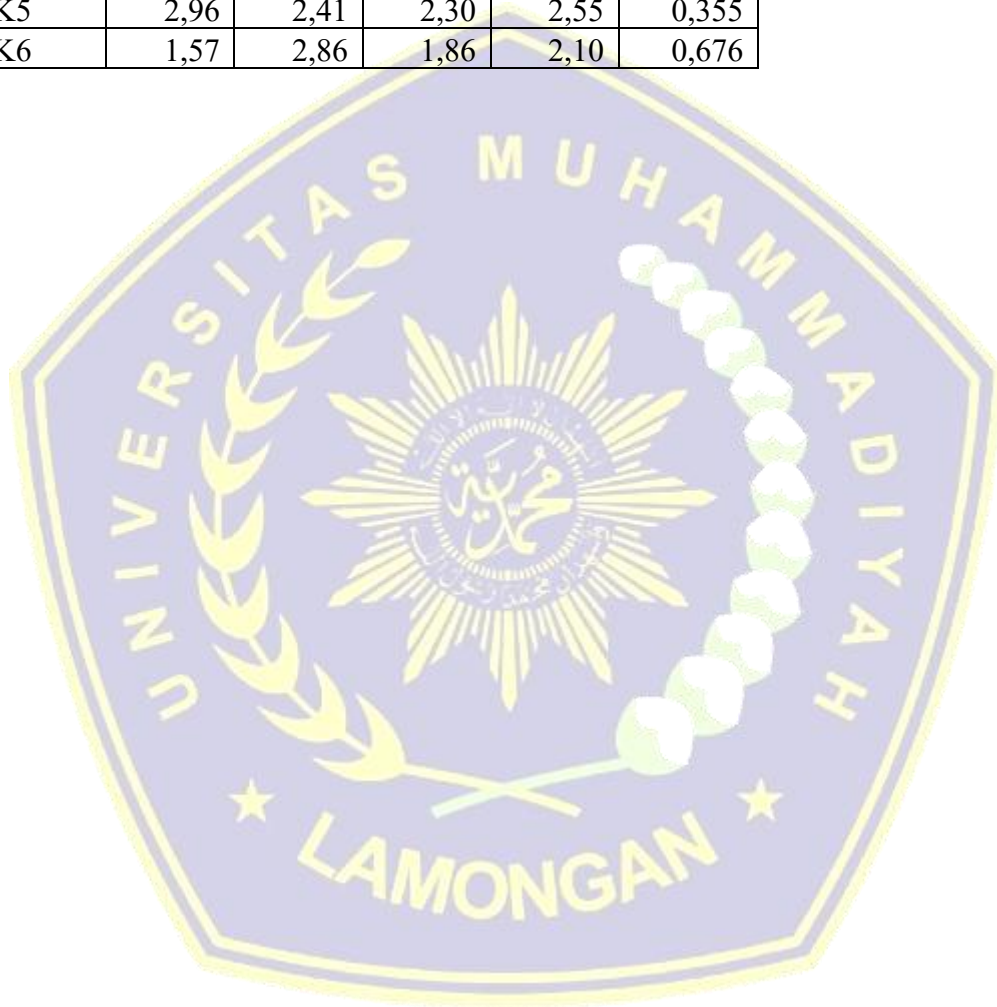
Lampiran 3.8 Tabel Pengamatan Uji Pelarut Fosfat

Isolat	IPF
K1	$2,99 \pm 0,25$ ab*
K2	$3,16 \pm 0,76$ ab*
K3	$2,62 \pm 0,17$ ab*
K4	$3,30 \pm 0,78$ b*
K5	$2,55 \pm 0,35$ ab*
K6	$2,10 \pm 0,67$ ab*

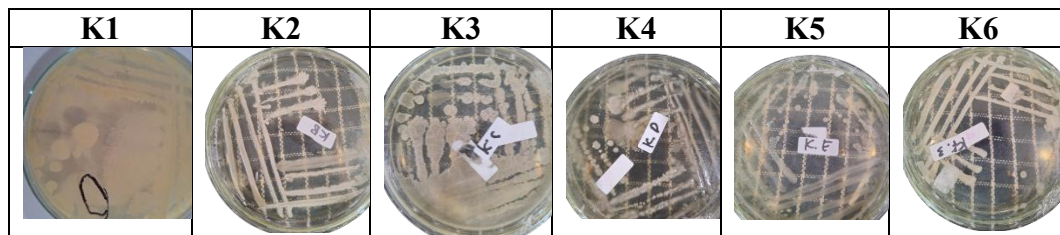


Lampiran 3.9 Penomoran dan Penandaan

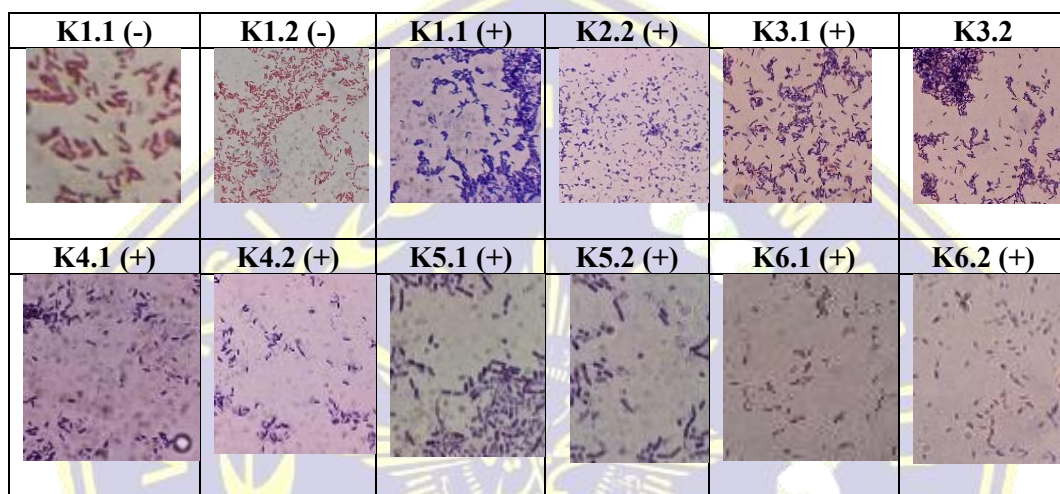
Isolat	Indeks Pelarut Fosfat (mm)			Rata- rata	Standar deviasi
	1	2	3		
K1	3,24	2,99	2,74	2,99	0,251
K2	3,91	2,38	3,19	3,16	0,767
K3	2,49	2,56	2,81	2,62	0,171
K4	4,20	2,97	2,73	3,30	0,787
K5	2,96	2,41	2,30	2,55	0,355
K6	1,57	2,86	1,86	2,10	0,676



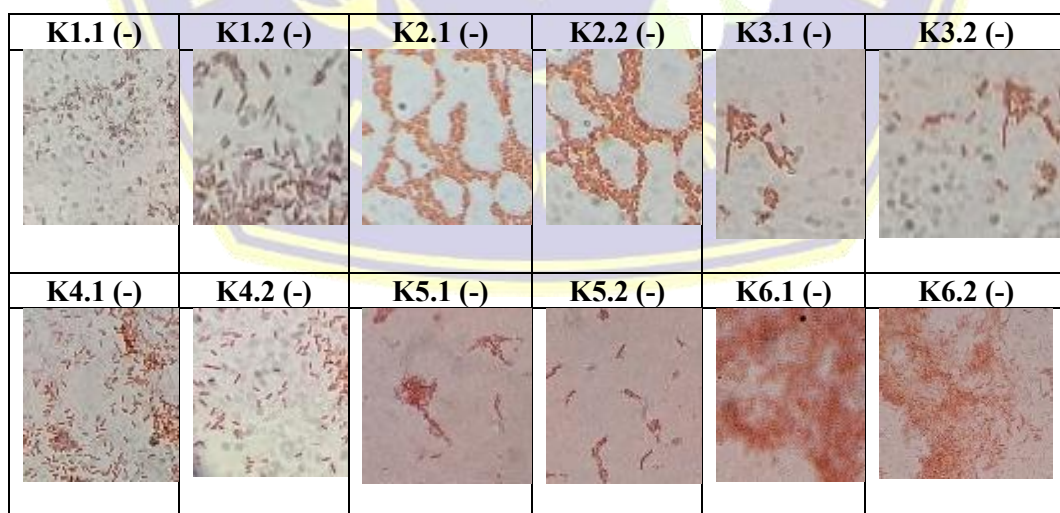
Lampiran 4.1 Dokumentasi Makroskopik



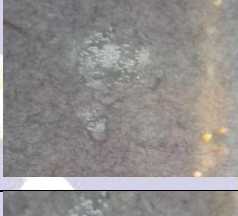
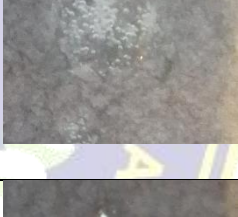
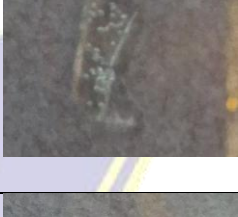
Lampiran 4.2 Dokumentasi Perwarnaan Gram



Lampiran 4.3 Dokumentasi Uji Endospora



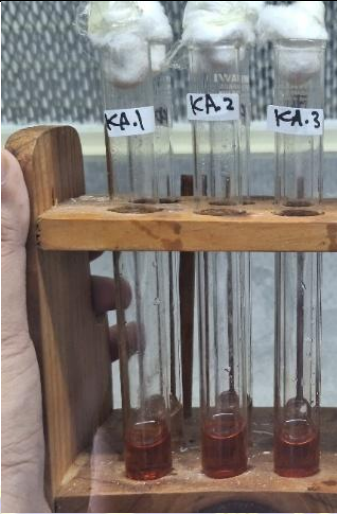
Lampiran 4.4 Dokumentasi Uji Katalase

Sampel	Dokumentasi	Sampel	Dokumentasi
K1.1		K4.1	
K1.1		K4.2	
K2.1		K5.1	
K2.2		K5.2	
K3.1		K6.1	
K3.2		K6.2	

Lampiran 4.5 Dokumentasi Hasil Perubahan Warna Uji Kemampuan Penghasil IAA

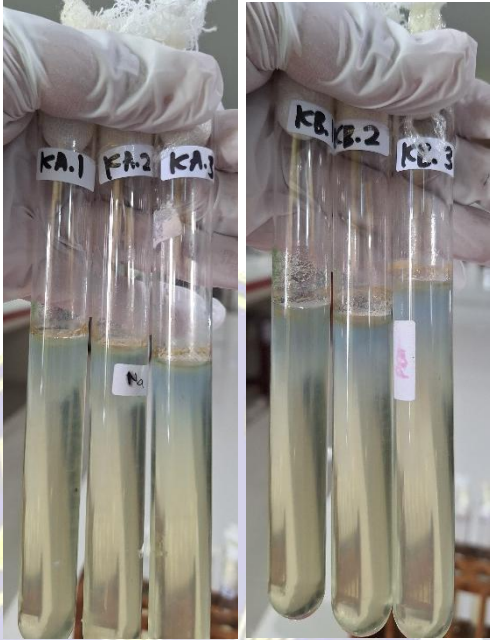
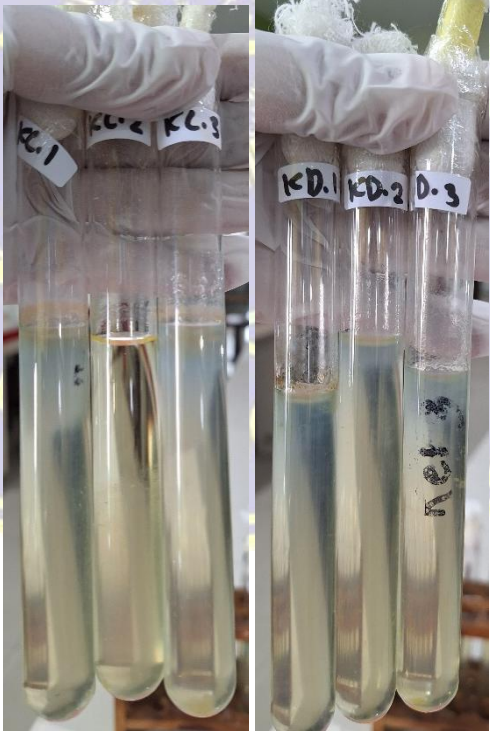
Waktu	Isolat	Dokumentasi
0 jam	Negatif (-) IAA	
	Negatif (-) IAA	

24 jam	Positif (+) IAA	
	Negatif (-) IAA	

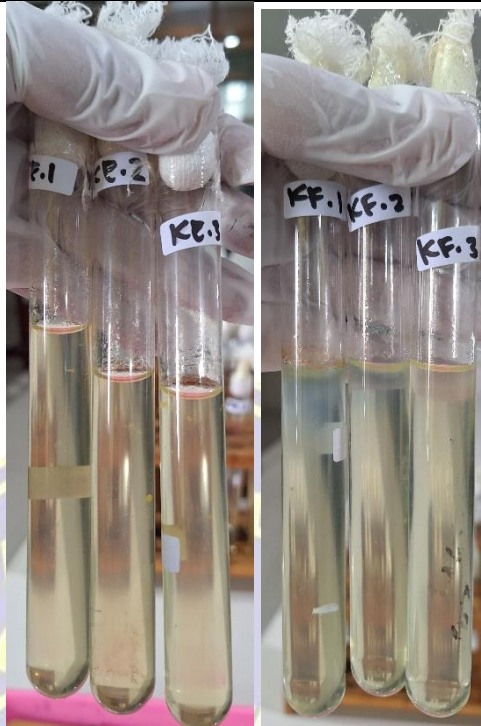
48 jam	Positif (+) IAA	
	Negatif (-) IAA	

72 jam	Positif (+) IAA	
	Negatif (-) IAA	

Lampiran 4.6 Dokumentasi Hasil Perubahan Warna Uji Penambat Nitrogen

Isolat	Dokumentasi
K1,K2 (positive)	
K3, K4 (positive)	

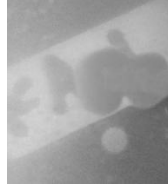
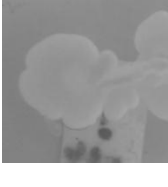
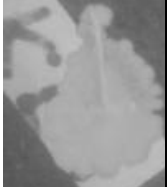
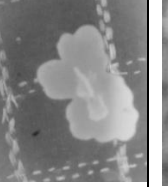
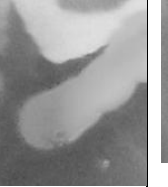
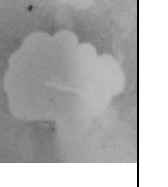
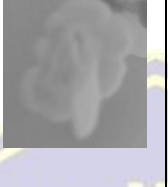
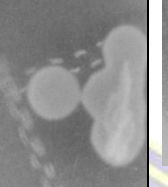
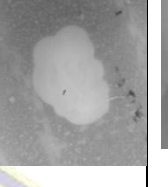
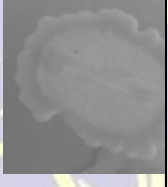
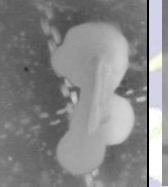
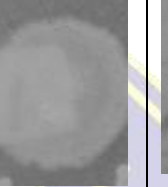
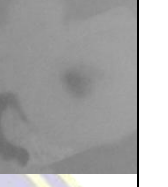
**K5 (negative) , K6
(positive)**



kontrol



Lampiran 4.7 Dokumentasi Indeks Pelarut Fosfat

K1	K2	K3	K4	K5	K6
					
					
					



Lampiran 5.1 Analisis Data One Way annova IAA

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
iaa0	Between Groups	1.430	5	.286	2.714	.073
	Within Groups	1.264	12	.105		
	Total	2.694	17			
iaa24	Between Groups	3162916.017	5	632583.203	514.873	.000
	Within Groups	14743.446	12	1228.621		
	Total	3177659.463	17			
iaa48	Between Groups	2370912.228	5	474182.446	241.313	.000
	Within Groups	23580.097	12	1965.008		
	Total	2394492.325	17			
iaa72	Between Groups	1920835.876	5	384167.175	390.783	.000
	Within Groups	11796.851	12	983.071		
	Total	1932632.727	17			



Tests of Normality

	isolat	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
iaa0	K1	.337	3	.	.855	3	.253
	K2	.362	3	.	.803	3	.122
	K3	.307	3	.	.904	3	.398
	K4	.248	3	.	.968	3	.657
	K5	.385	3	.	.750	3	.000
	K6	.343	3	.	.842	3	.220
iaa24	K1	.335	3	.	.858	3	.262
	K2	.292	3	.	.923	3	.463
	K3	.184	3	.	.999	3	.926
	K4	.253	3	.	.964	3	.636
	K5	.330	3	.	.866	3	.284
	K6	.193	3	.	.997	3	.890
iaa48	K1	.235	3	.	.978	3	.714
	K2	.369	3	.	.787	3	.085
	K3	.175	3	.	1.000	3	1.000
	K4	.385	3	.	.750	3	.000
	K5	.321	3	.	.881	3	.328
	K6	.304	3	.	.907	3	.408
iaa72	K1	.184	3	.	.999	3	.927
	K2	.241	3	.	.974	3	.688
	K3	.244	3	.	.971	3	.675
	K4	.182	3	.	.999	3	.936
	K5	.305	3	.	.906	3	.405
	K6	.277	3	.	.941	3	.531

a. Lilliefors Significance Correction



Descriptives

isolat		Statistic		Std. Error
iaa0	K1	Mean	5.0867	.10929
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.6164
			Upper Bound	5.5569
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	5.1700	
		Variance	.036	
		Std. Deviation	.18930	
		Minimum	4.87	
		Maximum	5.22	
		Range	.35	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	-1.597	1.225
		Kurtosis	.	.
	K2	Mean	5.0400	.09018
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.6520
			Upper Bound	5.4280
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	4.9600	
		Variance	.024	
		Std. Deviation	.15620	
		Minimum	4.94	
		Maximum	5.22	
		Range	.28	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.700	1.225
		Kurtosis	.	.
	K3	Mean	5.1033	.06984
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	4.8028
			Upper Bound	5.4038
		5% Trimmed Mean	.	
		Median	5.0600	
		Variance	.015	
		Std. Deviation	.12097	
		Minimum	5.01	
		Maximum	5.24	
		Range	.23	
		Interquartile Range	.	
		Skewness	1.405	1.225
		Kurtosis	.	.
	K4	Mean	5.7700	.41956
		95% Confidence Interval for Mean	Lower Bound	3.9648
			Upper Bound	7.5752

Lampiran 5.2 Uji Lanjut Duncan Multiple Range Test (DMRT) IAA

iaa0

Duncan^a

isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K5	3	4.8967	
K2	3	5.0400	
K6	3	5.0500	
K1	3	5.0867	
K3	3	5.1033	
K4	3		5.7700
Sig.		.489	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

iaa24

Duncan^a

isolat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K2	3	135.6033		
K6	3	136.5167		
K4	3	137.7300		
K3	3	143.4833		
K5	3		212.5767	
K1	3			1275.6033
Sig.		.803	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

iaa48

Duncan^a

isolat	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
K6	3	141.3633	
K4	3	145.3033	
K2	3	149.5467	
K5	3	152.8800	
K3	3	161.3600	
K1	3		1123.7867
Sig.		.622	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

iaa72

Duncan^a

isolat	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
K2	3	171.0633		
K5	3	187.1200	187.1200	
K4	3	188.9400	188.9400	
K3	3	190.1533	190.1533	
K6	3		246.8167	
K1	3			1071.0600
Sig.		.502	.051	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 5.3 Analisis Data One Way annova Nitrogen

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	isolat	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
nitrogen	K1	.385	3	.	.750	3	.000
	K2	.349	3	.	.832	3	.194
	K3	.194	3	.	.996	3	.886
	K4	.181	3	.	.999	3	.939
	K5	.292	3	.	.923	3	.463
	K6	.385	3	.	.750	3	.000

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

nitrogen

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.123	5	1.825	18.106	.000
Within Groups	1.209	12	.101		
Total	10.332	17			

nitrogen

Duncan^a

		Subset for alpha = 0.05		
isolat	N	1	2	3
K5	3	1.1059		
K6	3	1.5858		
K4	3		2.3642	
K3	3		2.3999	
K2	3		2.8696	2.8696
K1	3			3.1835
Sig.		.089	.088	.249

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Lampiran 5.4 Analisis Data One Way annova Fosfat

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	isolat	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Fosfat	K1	.175	3	.	1.000	3	.999
	K2	.181	3	.	.999	3	.939
	K3	.310	3	.	.899	3	.381
	K4	.330	3	.	.866	3	.285
	K5	.328	3	.	.871	3	.297
	K6	.303	3	.	.909	3	.416

a. Lilliefors Significance Correction

ANOVA

Fosfat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	2.998	5	.600	1.911	.166
Within Groups	3.765	12	.314		
Total	6.763	17			

Fosfat

Duncan^a

		Subset for alpha = 0.05	
isolat	N	1	2
K6	3	2.0966	
K5	3	2.5537	2.5537
K3	3	2.6193	2.6193
K1	3	2.9894	2.9894
K2	3	3.1582	3.1582
K4	3		3.2983
Sig.		.055	.163

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.