

PROSIDING

Seminar Nasional Biodiversitas



Pengelolaan Keanekaragaman Hayati Melalui Penerapan Bioteknologi

Diselenggarakan oleh:
Program Studi Biologi FMIPA UNS
Kelompok Studi Biodiversitas

Didukung oleh:
Program Studi Biosains Pascasarjana UNS
Masyarakat Biodiversitas Indonesia





Kelompok Studi Biodiversitas

Program Studi Biologi FMIPA UNS
Jl. Ir. Sutami 36A Ketingan Surakarta
Email: biodiversitasuns@gmail.com

ISSN 2337-506X



9 772337 506005

PROSIDING
SEMINAR NASIONAL BIODIVERSITAS

Pengelolaan Keanekaragaman Hayati melalui Penerapan
Bioteknologi

Dilaksanakan Tanggal 4 November 2016
di Hotel Lorin Solo

Terselenggara atas kerjasama



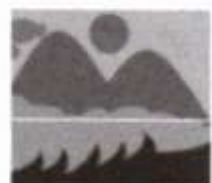
Program Studi Biologi
FMIPA UNS



Kelompok Studi Biodiversitas
Program Studi Biologi FMIPA
UNS



Program Studi Biosains
Pasca Sarjana UNS



Masyarakat
Biodiversitas Indonesia

VOL. 6/JULI/2017

PROSIDING
Seminar Nasional Biodiversitas

ISSN 2337-506X

TIM REVIEWER DAN EDITOR

PROSIDING SEMINAR NASIONAL BIODIVERSITAS

REVIEWER:

1. Dr. Ratna Setyaningsih, M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
2. Nita Etikawati, S. Si., M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
3. Dr. Shanti Listyawati, S. Si., M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
4. Dr. Tetri Widiyani, M.Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
5. Dr. Roni Koneri, M.Si (Universitas Sam Ratulangi – Manado)
6. Rony Irawanto, S.Si., M. T. (LIPI – Kebun Raya Purwodadi)
7. Dr. Solichatun, S. Si., M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
8. Siti Lusi Arum Sari, S. Si., M. Biotech. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
9. Dr. Ari Susilowati, S. Si., M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)
10. Suratman, S. Si., M. Si. (Universitas Sebelas Maret – Surakarta)

EDITOR

Anisa Septiasari
Ayu Astuti
Ivon Nanda Berlian
Krisanty Kharismamurti
Nur Choiriyah Merdekawati
Yoshe Rahmad Alkarim

PENERBIT

Kelompok Studi Biodiversitas Program Studi Biologi FMIPA UNS

ISSN: 2337-506X

Dilarang keras menjiplak, mengutip, memfotokopi sebagian atau seluruh isi buku serta memperjual belikan tanpa ijin tertulis

© HAK CIPTA DILINDUNGI OLEH UNDANG-UNDANG

SUSUNAN ACARA

SEMINAR NASIONAL BIODIVERSITAS UNS 2016

Sabtu, 04 November 2016

| Waktu | Agenda |
|-------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 07.00-08.00 | Registrasi Peserta |
| 08.00-08.30 | Pembukaan Acara |
| 08.30-09.00 | <i>Coffee Break</i> |
| 09.00-11.30 | Pembicara Utama : <ol style="list-style-type: none">1. Prof. Dr. Ir. Antonius Suwanto, M.Sc.2. Dr. Ir. Ayu Dewi Utari, M.Si.3. Prof. Dr. Sugiyarto, M.Si. |
| 11.30-13.00 | ISHOMA dan Sesi Poster |
| 13.00-15.00 | Sesi Paralel |
| 15.00-15.30 | <i>Coffee Break</i> |
| 15.30-16.30 | Sesi Paralel dan Sesi Poster |
| 16.30-17.00 | Penutupan acara |

DAFTAR ISI

| | |
|-----------------------------------|---------|
| | halaman |
| HALAMAN JUDUL | i |
| TIM REVIEWER DAN EDITOR PROSIDING | ii |
| SUSUNAN KEPANTIAAN | iii |
| KATA PENGANTAR | v |
| SUSUNAN ACARA | vi |
| DAFTAR ISI | vii |

| No | Judul | Nama | Hal |
|----|-------|------|-----|
|----|-------|------|-----|

Makalah Utama

| | | | |
|---|-----------------------------------------------------------------------------------|----------------|-----|
| 1 | KONSERVASI KEANEKARAGAMAN HAYATI | Ayu Dewi Utari | xii |
| 2 | EKSPEDISI WUKIR MAHENDRA; STRATEGI PENGUATAN KEDAULATAN BIODIVERSITAS GUNUNG LAWU | Sugiyarto | xiv |

**Makalah Penunjang
Oral**

| | | | |
|---|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 3 | KORELASI KARAKTER ANATOMI DAUN UBI JALAR (<i>Ipomoea batatas</i> L.) KULTIVAR TAHAN DAN TIDAK TAHAN TERHADAP INTENSITAS PENYAKIT KUDIS DAUN | Ade Winda Pradana, Siti Samiyarsih, Juni Safitri Muljowati | 1 |
| 4 | PENGARUH JAMU SAINTIFIK OSTEOARTRITIS PADA LINGKUP GERAK SENDI PASIEN OSTEOARTRITIS LUTUT DI RUMAH RISET JAMU HORTUS MEDICUS TAWANGMANGU | Danang Ardiyanto, Zuraida Zulkarnain, Tofan Aries Mana | 6 |
| 5 | UPAYA KONSERVASI SUMBER DAYA GENETIK UNTUK Mendukung PROGRAM PEMULIAAN JENIS-JENIS SHOREA PENGHASIL TENGGAWANG (<i>Shorea spp</i>) | Dedi Setiadi, Eritrina Windyarini, Tri Maria Hasna | 9 |
| 6 | STABILITAS ALGINAT RUMPUT LAUT (<i>Sargassum polycystum</i>) DENGAN KOMBINASI KONSENTRASI LARUTAN DAN LAMA PENYIMPANAN BERBEDA SEBAGAI PENGENTAL | Dwi Sunu Widartini, Sulistyani, Hexa Apriliana Hidayah | 18 |
| 7 | AKTIVITAS ANTIBAKTERI FILTRAT ASAM LAKTAT DAN BAKTERIOSIN <i>Bifidobacterium bifidum</i> TERHADAP MULTIDRUGS-RESISTANT <i>E. coli</i> | Dyah Fitri K, P.M. Hendrati, Meyta Pratiwi | 22 |
| 8 | KAJIAN KONDISI PEMURNIAN GLUKOMANAN AMORPHOPHALLUS ONCOPHYLLUS SECARA ENZIMATIS MENGGUNAKAN α -AMILASE | Dyah Hesti Wardhani, Nita Aryanti, Febrian Murvianto, Ken Dimas Yogananda | 25 |
| 9 | PENGARUH AIR KELAPA MUDA TERHADAP KUALITAS IMUN MENCIT TERPAPAR RADIASI SINAR GAMMA | Elvariza Opita br. Sitopu | 30 |

| | | | |
|----|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 10 | OPTIMALISASI PERTUMBUHAN MIKROALGA <i>Dunaliella</i> sp. DENGAN PEMANFAATAN LIMBAH CAIR TAPIOKA PADA TINGKAT PENGENCERAN DAN SALINITAS BERBEDA UNTUK MEDIA KULTUR SKALA LABORATORIUM | Hani Septiani, Christiani, Dwi Sunu Widyartini | 34 |
| 11 | PENILAIAN SIKAP WIRAUSAHA MAHASISWA MELALUI LAPORAN PROYEK BIOTEKNOLOGI YANG BERBASIS SUMBER DAYA LOKAL | Ismail Fikri Natadiwijaya | 39 |
| 12 | IDENTIFIKASI SUMBER DAYA LOKAL HAYATI DI KABUPATEN INDRAMAYU: STUDI KASUS SEBAGAI DASAR BAGI PENGEMBANGAN PRODUK BERBASIS SUMBER DAYA LOKAL | Ismail Fikri Natadiwijaya | 42 |
| 13 | VARIASI PERTUNASAN TANAMAN PANGKAS PULAI GADING (<i>Alstonia scholaris</i>) DARI BEBERAPA PROVENAN DI NUSA TENGGARA | Mashudi | 46 |
| 14 | PITOEN & PHITOFLEUEN | Matheos J. Takaeb | 50 |
| 15 | UJI EFEK ANALGESIK, TOKSISITAS AKUT DAN TERTUNDA EKSTRAK ETANOL TUMBUHAN JAKA TUWA (<i>Scoparia dulcis</i> L.) PADA MENCIT (<i>Mus musculus</i>) JANTAN GALUR BALB/C | Naila Wahyu Istanti, Klara Rizky Amilia, Hani Wulandari Pratiwi, Siti Megawati, Ayu Rahmawati, Tetri Widiyani | 55 |
| 16 | POTENSI ISOLAT <i>Azospirillum</i> spp. ASAL LAHAN PASIR BESI SEBAGAI KANDIDAT RIZOBAKTERI PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN (RPPT) | Oedjijono, Sarjiya Antonius, Sodik Wuryanto | 59 |
| 17 | PARAMETER LEUKOSIT PADA UJI TOKSISITAS SUBKRONIS EKSTRAK N-HEXANA RUMPUT KEBAR (<i>Biophytum petersinum</i> Klotzsch) ENDEMIK PAPUA | Priyo Sambodo, Dwi Nurhayati, Purwaningsih, Claude Mona Airin, Trini Susmiati | 65 |
| 18 | PENGARUH PEMBERIAN BLOTONG LIMBAH PABRIK GULA TERHADAP RENDEMEN TEBU (<i>Saccharum officinarum</i>) | RM Hendy Hendro, Taufik, Budi Gunawan | 67 |
| 19 | POLA SEBARAN PARASITOID <i>Tamarixia radiata</i> DALAM MENGENDALIKN HAMA DIAPHORINA CITRI PADA TANAMAN JERUK | Rudi Cahyo Wicaksono, Wuryantini S | 70 |
| 20 | POTENSI MIMBA UNTUK PENGENDALIAN HAMA TUNGAU KARAT PADA TANAMAN JERUK | Rudi Cahyo Wicaksono, O. Endarto | 73 |

| | | | |
|----|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 21 | PENGEMBANGAN KUBIS BUNGA DI LAHAN PASIR PANTAI: PERTUMBUHAN DAN HASIL PADA BERBAGAI PEMBENAH TANAH DAN DOSIS PUPUK NITROGEN | Saparso, Anung Slamet Dwi Purwantono | 76 |
| 22 | PERTUMBUHAN MIKROALGA <i>Chlorella</i> sp. SEBAGAI BAHAN BAKU PEMBUATAN BIODISEL PADA MEDIA LIMBAH CAIR PENGOLAHAN SAGU (<i>Metroxylon</i> sp.) ASAL PAPUA | Sarman Oktovianus Gultom, Eduard F. Tethool, Bambang Susilo, Aji Sutrisno | 83 |
| 23 | IDENTIFIKASI SNPs 257 GEN CALPASTATIN BERHUBUNGAN DENGAN KUALITAS DAGING PADA KERBAU | Slamet Diah Volkandari, Endang Tri Margawati, Indriawati, Chalib Talib | 87 |
| 24 | PROSPEK BUDIDAYA UWI MANIS (<i>Dioscorea alata</i>) SECARA AGROFORESTRI DALAM PENINGKATAN KETAHANAN PANGAN LOKAL | Sri Purwaningsih | 90 |
| 25 | PEMBUATAN BOKOMPOSIT SUPER ABSORBEN POLIMER BERBASIS SELULOSA DARI KULIT PISANG RAJANANGKA (<i>Musa paradisiaca</i>) DAN POLY ACRYLAMIDA MENGGUNAKAN SINAR ULTRA VIOLET (UV) | Supriyanto, Alfian Febrianto | 95 |
| 26 | EFEK FORMULA REBUSAN DAUN SALAM (<i>Zysygium Polianthum</i>), PEGAGAN (<i>Centella asiatica</i>), ALANG-ALANG (<i>Imperata cylindrical</i> L) DAN BIJI PALA (<i>Myristica fragrans</i> Houtt) SEBAGAI RAMUAN ANTIHIPERTENSI TERHADAP FUNGSI GINJAL DAN LIVER TIKUS PUTIH GALUR SPRAGUE DAWLEY | Ulfatun Nisa, Ulfa Fitriani, Enggar Wijayanti | 101 |
| 27 | UJI TOKSISITAS AKUT TERHADAP FORMULA REBUSAN CABE JAWA, DAUN SENDOK DAN SELEDRI PADA TIKUS PUTIH <i>Rattus norvegicus</i> L. | Ulfa Fitriani, Ulfatun Nisa, Enggar Wijayanti | 106 |
| 28 | UJI COBA KIT IODINE UNTUK DETEKSI CEPAT PENYAKIT HUANGLONGBIN (HLB) PADA TANAMAN JERUK DI BEBERAPA LOKASI | Triasih Unun, Agustina D, Dwiastuti M E | 109 |
| 29 | EFEK RAMUAN JAMU HEMOROID TERHADAP KUALITAS HIDUP PASIEN KLINIK "HORTUS MEDICUS" TAWANGMANGU | Widhi Astana, Agus Triyono, Ulfatun Nisa | 114 |
| 30 | REKAYASA PENYERBUKAN SALAK AMPELGADING | Yuni Agung Nugroho, Toto Suharjanto, Nanang Hartiyanto | 118 |

| | | | |
|---------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 31 | PENGARUH PEMBERIAN FORMULA JAMU HEPATOPROTEKTOR TERHADAP KUALITAS HIDUP PASIEN DENGAN GANGGUAN FUNGSI HATI RINGAN | Zuraida Zulkarnain, Danang Ardiyanto, Fajar Novianto | 123 |
| Poster | | | |
| 32 | EFEK FORMULA JAMU DISPEPSIA TERHADAP FUNGSI GINJAL | Agus Triyono, PR Widhi Astana, Sunu Pamadyo | 128 |
| 33 | KOMUNITAS RHIZOBAKTERIA TANAMAN TEH SETELAH APLIKASI FORMULA BIOIMUNIZER DENGAN PENDEKATAN TRFLP (<i>Terminal Restriction Fragment Length Polimorphism</i>) | Dwi N. Susilowati, Elin S. Aviani, Nurjanah, Fani Fauziah, Mieke R. Setiawati, Eko Pranoto, Mamik Setyowati, Yati Rachmiyati | 131 |
| 34 | AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA HASIL BIOTRANSFORMASI KURKUMIN OLEH ISOLAT MIKROBA ENDOFIT DARI <i>Curcuma longa</i> | Dwi Wulandari, Miftakh Nur Rahman, Titik K. Prana | 138 |
| 35 | KEMAMPUAN BEBERAPA BAKTERI LIMBAH KELAPA SAWIT MENGAKUMULASI PHB (<i>Polyhydroxybutirate</i>) PADA MEDIA MENGANDUNG POME | Dyah Supriyati | 143 |
| 36 | EKSPLORASI AKSESI ANGGREK <i>Coleogyne</i> sp. UNTUK BAHAN BAKU KOSMETIKA | Irni Furnawanthi, Ahmad Riyadi, Minaldi, Tarwadi, Roni Kartiman, Yenni Bakhtiar, Siti Zulaeha, Mardoni Elya, Kubil Martha Tilaar, Mayli, Fransiska Devi Junardy | 148 |
| 37 | EFEK IMUNOMODULATOR LUTEIN CRUDE DARI BEBERAPA JENIS KUNING TELUR BERDASARKAN AKTIVITAS DAN KAPASITAS FAGOSITOSIS SEL MAKROFAG PERITONEUM MENCIT | Kusmiati, Diah Ludiawansari, A Fifi Afiati | 153 |
| 38 | PRODUKSI ETANOL DARI MIKROALGA <i>Spirulina platensis</i> YANG DIFERMENTASIKAN DENGAN MENGGUNAKAN DUA JENIS <i>Saccharomyces cerevisiae</i> YANG BERBEDA | Ni Wayan Sri Agustini, M. Apriastini, Evy Fitria | 158 |
| 39 | UJI POTENSI ANTIOKSIDAN SERTA ANTIBAKTERI ASAM LEMAK DARI EKSTRAK N-HEKSANA, ETIL ASETAT, ETANOL MIKROALGA <i>Chroococcus Turgidus</i> | Ni Wayan Sri Agustini, Nurul A. Zein | 164 |



POTENSI ISOLAT *Azospirillum* spp. ASAL LAHAN PASIR BESI SEBAGAI KANDIDAT RIZOBAKTERI PEMACU PERTUMBUHAN TANAMAN (RPPT)

Oedjijono^{1*}, Sarjiya Antonius², Sodik Wuryanto²

¹Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto

²Pusat Penelitian Biologi Bidang Mikrobiologi LIPI Cibinong

*Email: oedjijono@gmail.com

Abstrak - Lahan pasir besi merupakan lahan marginal yang memiliki kandungan bahan organik rendah, kapasitas pertukaran kation rendah, kemampuan menahan air rendah, dan kandungan besi (Fe) berkisar 38-59%. Spesies anggota genus *Azospirillum* selain dikenal mampu tumbuh di lingkungan marginal juga merupakan salah satu anggota rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi isolat *Azospirillum* spp. asal lahan pasir besi sebagai kandidat RPPT. Penelitian untuk mengetahui karakter fisiologis *Azospirillum* spp. mencakup kemampuan melarutkan fosfat, produksi fitohormon IAA, siderofor, dan ACC-deaminase, serta sifat antagonisme terhadap beberapa fungi patogen dilakukan secara deskriptif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa enam isolat *Azospirillum* spp. (HR154, KR33, HR92, HR141, HR124, HR152) asal lahan pasir besi mampu melarutkan fosfat, menghasilkan fitohormon IAA, siderofor dan empat isolat (HR154, HR92, HR141, HR152) mampu menghasilkan ACC-deaminase. Pelarutan fosfat yang tinggi ditunjukkan oleh isolat KR33 dan HR141 dengan indeks pelarutan masing-masing sebesar 135,38 dan 123,67. Produksi IAA tertinggi ditunjukkan oleh isolat HR92 yaitu sebanyak 97,02 mg.mL⁻¹. Penghasilan siderofor yang tinggi diperlihatkan oleh isolat HR154 dan HR14, masing-masing sebanyak 26,36 dan 28,1 % siderofor unit. Namun demikian, keenam isolat tidak bersifat antagonis terhadap fungi patogen *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Cercospora* sp., dan *Aspergillus* sp.. Hasil penelitian mengindikasikan bahwa keenam isolat *Azospirillum* spp. asal lahan pasir besi memiliki potensi sebagai kandidat RPPT.

Kata kunci: *Azospirillum*, ACC-deaminase, IAA, pelarutan fosfat, siderofor.

PENDAHULUAN

Lahan pasir besi ditemukan hampir di seluruh pesisir pulau di Indonesia. Kandungan Fe di lahan pasir besi sekitar pantai selatan Jawa Tengah dan Daerah Istimewa Yogyakarta berkisar antara 14,6% - 56,75% (Yasir, 2011; Anonim, 2012). Sifat fisika dan kimia tanah pasir besi tidak mendukung pertumbuhan tanaman, karena tanahnya didominasi oleh tekstur pasir, memiliki kapasitas pertukaran kation dan kandungan bahan organik rendah (Djajakirana *et al.*, 2009). Lahan pasir besi meskipun merupakan lingkungan yang ekstrim bagi berbagai jenis organisme tetapi kondisi tersebut dapat dihuni oleh mikroba seperti bakteri penambat N₂ *Azospirillum*.

Azospirillum adalah bakteri rizosfer non-simbiotik (Bashan & Holguin, 1997), terdapat pada hampir semua sistem perakaran tumbuhan (Saharan & Nehra, 2011) dan telah dimanfaatkan sebagai agensia pupuk hayati (Sidiqqi, 2010; Tilak *et al.*, 2010). Secara ekologis *Azospirillum* tersebar sangat luas pada daerah dengan kondisi normal sampai dengan kondisi ekstrim (Baldani *et al.*, 2005).

Kemampuan tumbuh *Azospirillum* pada lingkungan dengan suhu ekstrim karena mempunyai mekanisme fisiologis yang efisien antara lain dengan membentuk kista (Bashan, 1999). Berdasarkan kemampuan tumbuh, agresif mengkolonisasi akar dan menguntungkan tanaman, *Azospirillum* dikenal sebagai rizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT) (Steenhoudt &

Vanderleyden, 2006). Mekanisme peningkatan pertumbuhan tanaman oleh RPPT dapat secara langsung ataupun tidak langsung. Mekanisme secara langsung melalui peningkatan penyerapan nitrogen, penghasilan fitohormon (IAA, giberelin, atau sitokinin), dan pelarutan mineral seperti fosfat (Bowen & Rovira, 1999). Mekanisme secara tidak langsung dapat dengan cara menghasilkan antibiotik dan atau siderofor yang mampu menekan pertumbuhan patogen (Bloemberg & Luglenberg, 2001), serta pengurangan konsentrasi etilen di rizosfer melalui penghasilan 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid-deaminase (ACC-deaminase) (Hussain *et al.*, 2013).

Oedjijono *et al.* (2014) berhasil mengisolasi sebanyak 118 isolat *Azospirillum* spp. dari rizosfer dan tanah pasir besi pesisir Purworejo yang diduga memiliki peran dalam membantu pertumbuhan tanaman. Sebanyak 6 isolat (HR11, HP51, KP11, KR13, KP35, dan KR66) terbukti mampu melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA, di samping menambat N₂ secara *in vitro*. Kemampuan tersebut mengindikasikan bahwa keenam isolat *Azospirillum* spp. berpeluang sebagai agensia RPPT khususnya bagi pertumbuhan tanaman di tanah marginal. Karakterisasi lebih lanjut terkait potensi dari isolat *Azospirillum* spp. lainnya terus dilakukan.

Pada penelitian ini, sebanyak enam isolat yaitu HR154, KR33, HR92, HR141, HR124, dan HR152 yang diketahui mampu menambat N₂ berkisar antara 35-55 ppm; dicoba kemampuannya dalam pelarutan fosfat, penghasilan IAA, siderofor, dan ACC-deaminase, serta

antagonisme terhadap fungi patogen. Penelitian bertujuan mengetahui potensi isolat *Azospirillum* spp. asal lahan pasir besi sebagai kandidat RPPT.

METODE PENELITIAN

Isolat *Azospirillum* spp. (HR154, KR33, HR92, HR141, HR124, HR152) yang digunakan pada penelitian ini merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Biologi Unsoed Purwokerto, yang diisolasi dari rizosfer tumbuhan yang tumbuh di lahan pasir besi (Oedjijono et al., 2014).

Kemampuan pelarutan fosfat isolat Azospirillum spp.

Uji pelarutan fosfat dilakukan pada medium agar Pikovskaya (Subba Rao, 1982). Sebanyak satu ose kultur padat isolat *Azospirillum* sp. diinokulasikan secara aseptis dengan metode *spot inoculation* pada cawan Petri berisi medium agar *Pikovskaya*. Cawan diinkubasi pada suhu ruang selama 7 hari. Zona jernih yang terbentuk di sekitar koloni diamati dan diukur. Efisiensi pelarutan fosfat (IP) dihitung berdasarkan formula dari Nguyen et al. (1992).

$$IP = \frac{\text{Diameter pelarutan}}{\text{Diameter koloni}} \times 100$$

Estimasi fosfat anorganik terlarut isolat Azospirillum spp. (Ahmad et al., 2008)

Inokulum *Azospirillum* (4%, v/v) dengan kepadatan seragam ($OD_{600}=0,600 - 0,650$) diinokulasikan pada 50 mL medium cair *Pikovskaya* dalam Erlenmeyer 100 mL. Kultur diinkubasi pada *shaker orbital* dengan kecepatan 150 rpm selama 7 hari. Kontrol diinokulasi dengan larutan NaCl fisiologis steril. Sebanyak 10 mL kultur disaring menggunakan kertas *Whatman* no.41 untuk memisahkan sisa $Ca_3(PO_4)_2$ yang masih terbawa. Hasil saringan disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 20 menit. Sebanyak 1 ml supernatan dimasukkan ke dalam labu takar 50 mL dan ditambahkan dengan 10 mL reagen *Chloromolybdic acid*, dikocok hingga homogen kemudian ditambahkan dengan 100 μ L reagen *Chlorostannous*. Larutan dikocok hingga homogen, ditambah akuades hingga volume mencapai 50 mL, dan biarkan selama 10 menit. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm. Hasil pengukuran absorbansi sampel dimasukkan dalam persamaan regresi linier kurva standar fosfat, sehingga akan didapatkan jumlah fosfat anorganik terlarut. pH medium diukur pada awal dan akhir masa inkubasi. Populasi total bakteri pelarut fosfat dilakukan pada medium *Pikovskaya Agar* secara TPC.

Kemampuan produksi fitohormon IAA isolat Azospirillum spp. (Patten & Glick, 2002)

Sebanyak 0,5 mL inokulum *Azospirillum* sp. dengan kepadatan 10^8 CFU.mL⁻¹ diinokulasikan pada 25 mL medium *Nutrient Broth Half-Strength* yang telah ditambahkan substrat L-triptofan dengan konsentrasi 100 mg.L⁻¹ dalam labu *Erlenmeyer* 50 mL yang ditutup dengan plastik hitam. Kultur diinkubasi pada *shaker incubator* dengan kecepatan 150 rpm pada suhu ruang. Pengukuran IAA dilakukan pada jam ke-0, 24, 48, dan 72. Sebanyak 4

mL kultur diambil secara aseptis dan dimasukkan ke dalam tabung *Eppendorf*, disentrifus menggunakan *microcentrifuge* pada kecepatan 8.000 rpm selama 10 menit. Supernatan yang terbentuk diambil sebanyak 0,5 mL dan ditambahkan dengan 1 mL reagen *Salkowski*, diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit. Supernatan diukur nilai absorbansinya menggunakan UV-vis Spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Hasil absorbansi dimasukkan ke dalam persamaan kurva standar IAA.

Kemampuan produksi siderofor isolat Azospirillum spp. secara kualitatif (Louden et al., 2011) dan *estimasi secara kuantitatif* (Schwyn & Neilands, 1987)

Produksi siderofor secara kualitatif dilakukan dengan cara, sebanyak satu ose kultur padat isolat *Azospirillum* sp. diinokulasi gores pada cawan Petri berisi medium *Chrome Azurol Sulfate*. Kultur diinkubasi pada suhu ruang dan pengamatan dilakukan setiap hari. Produksi siderofor diindikasikan dengan terbentuknya warna orange di sekitar koloni bakteri.

Pengukuran estimasi produksi siderofor secara kuantitatif dilakukan dengan cara, sebanyak satu ose kultur diinokulasikan pada 5 mL medium *Succinate Iron Free*, kemudian diinkubasi pada *shaker waterbath incubator* selama 48 jam pada kecepatan 125 rpm. Sebanyak 1% volume kultur diinokulasikan ke dalam 30 mL medium *Succinate Iron Free* dan diinkubasi pada *shaker orbital* dengan kecepatan 125 rpm, diinkubasi selama 48 jam. Sebanyak 2 mL kultur disentrifus pada kecepatan 10.000 rpm selama 10 menit, kemudian 0,5 mL supernatan ditambahkan dengan 0,5 mL *Blue Dye CAS*, divortex kemudian nilai absorbansinya diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 630 nm. Blanko digunakan medium *Succinate Iron Free* tanpa penambahan isolat. Jumlah siderofor unit dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$(\%) \text{ Siderofor Unit} = \frac{(\text{Abs. blanko} - \text{Abs. sampel})}{\text{Abs. blanko}} \times 100\%$$

Kemampuan produksi ACC-deaminase isolat Azospirillum spp. secara kualitatif (Penrose & Glick, 2003)

Sebanyak satu ose kultur padat isolat *Azospirillum* sp. digoreskan pada medium *Dworkin-Foster Salt* (DF Salt) yang telah ditambahkan dengan 3 mM ACC sebagai sumber nitrogen. Sebelumnya dibuat larutan induk ACC sebanyak 0,5 M dengan cara melarutkan 0,1 g ACC ke dalam 1,987 mL akuades steril kemudian disterilisasi menggunakan *millipore* 0,22 μ m dan disimpan dalam *freezer* bersuhu -20°C. Medium yang telah diinokulasi oleh isolat diamati setiap hari dan dibandingkan dengan perlakuan kontrol negatif (medium DF Salt tanpa N) dan perlakuan kontrol positif (medium DF dengan *Ammonium Sulfate*). Kemampuan isolat dalam produksi enzim ACC-deaminase ditandai dengan adanya pertumbuhan pada medium dengan ACC dan *Ammonium Sulfate* tetapi tidak tumbuh pada medium DF tanpa N.

Uji antagonisme isolat Azospirillum spp. dengan fungi patogen

Uji antagonisme isolat *Azospirillum* spp. terhadap fungi patogen dilakukan dengan metode *dual culture test*. Kultur padat isolat *Azospirillum* diinokulasi gores sepanjang 3 cm pada satu sisi medium PDA dan di seberangnya diinokulasi dengan satu *plug* fungi patogen *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Cercospora* sp., atau *Aspergillus* sp.. Cawan diinkubasi pada suhu ruang hingga miselium fungi menutupi seluruh permukaan cawan. Adanya antagonisme diindikasikan dengan terbentuknya zona bening di antara pertumbuhan bakteri dan fungi patogen. Luas zona yang terbentuk diamati dan diukur. Persentase nilai penghambatan (NP) diukur menggunakan rumus yang dipaparkan oleh Kumar *et al.* (2002) yaitu:

$$\% NP = 1 - \left(\frac{\text{jarak fungi pada tengah cawan ke isolat uji}}{\text{jarak fungi dari tepi hingga tengah cawan}} \right) \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa keenam isolat *Azospirillum* spp. mampu melarutkan fosfat anorganik (Tabel 1). Pengujian pada medium padat Pikovskaya yang mendasarkan pada terbentuknya zona bening, isolat *Azospirillum* sp. KR33 menghasilkan nilai IP tertinggi (135,38), diikuti oleh isolat HR141 (123,67) dan HR92 (122,10). Hasil pengukuran fosfat terlarut pada medium cair Pikovskaya menunjukkan hasil yang berbeda dibandingkan dengan nilai IP dari isolat-isolat yang diuji. Estimasi konsentrasi fosfat anorganik terlarut tertinggi pada medium cair Pikovskaya sebaliknya ditunjukkan oleh isolat HR141 dan HR154 yaitu sebanyak 377 dan 374 mg.L⁻¹. Hasil tersebut juga mirip dengan yang dilaporkan oleh Seshadri *et al.* (2000) bahwa beberapa isolat *A. halopraeferens* (LMG 7107, LMG 7108, LMG 7109) asal *rhizoplane* tanaman mampu melarutkan fosfat pada medium padat Sperber, tetapi tidak pada medium agar Pikovskaya; sebaliknya ketika ketiga isolat ditumbuhkan dalam medium cair Pikovskaya maupun Sperber, kemampuan melarutkan fosfat cukup tinggi. Sebanyak sembilan isolat *Azospirillum* spp. (KP14, KP23, KP24, KP27, KP31, KP34, KP36, KP37, HP150) asal tanah pasir besi memiliki kemampuan pelarutan fosfat yang cukup tinggi, dengan nilai IP berkisar antara 150-190 (Oedjijono *et al.*, 2014). Perbedaan hasil tersebut sangat wajar karena uji pelarutan fosfat pada medium padat Pikovskaya cenderung ditujukan untuk penilaian secara kualitatif sebaliknya uji estimasi fosfat terlarut pada medium cair Pikovskaya lebih ditujukan untuk penilaian secara kuantitatif. (Tabel 1)

Aktivitas pelarutan fosfat oleh bakteri berdasarkan pengukuran estimasi fosfat anorganik terlarut ternyata berkorelasi positif dengan penurunan nilai pH medium (Tabel 1). Konsentrasi fosfat anorganik terlarut semakin tinggi, pH medium semakin rendah. Hal tersebut antara lain ditunjukkan oleh isolat *Azospirillum* sp. HR141 yang menghasilkan konsentrasi fosfat anorganik terlarut paling tinggi mengalami penurunan pH medium paling signifikan yakni sebesar 0,85.

Mekanisme pelarutan fosfat oleh mikroba di tanah adalah melalui proses pelarutan mineral fosfat dan proses mineralisasi fosfat organik. Pelarutan mineral fosfat terutama melalui aksi asam-asam organik yang disintesis oleh mikroorganisme tanah. Produksi asam-asam organik menyebabkan sel mikroba dan lingkungannya menjadi asam (Rodriguez & Fraga, 1999), akibatnya Pi (*phosphate inorganic*) dilepaskan dari mineral fosfat melalui substitusi proton untuk Ca²⁺. Mekanisme pelarutan fosfat oleh *Azospirillum* disebabkan oleh sekresi asam organik yang diindikasikan oleh adanya penurunan pH medium (Seshadri *et al.*, 2000; Ramachandran *et al.*, 2007; Tahir *et al.*, 2013) dan proses disosiasi kation atau khelasi (Seshadri *et al.*, 2000). Asam organik seperti asam asetat, asam sitrat, dan asam glukonat dihasilkan oleh *Azospirillum* sp. WS-1 (Tahir *et al.*, 2013). Asam glukonat merupakan agensia pelarut mineral fosfat yang paling sering berperan di antara asam-asam organik yang dihasilkan oleh bakteri.

Populasi isolat *Azospirillum* spp. pada pengukuran estimasi fosfat anorganik tidak berkorelasi positif dengan konsentrasi fosfat anorganik terlarut (Tabel 1). Hal ini ditunjukkan oleh isolat *Azospirillum* sp. HR154 dengan populasi sebesar 8,462 log CFU.mL⁻¹ memiliki konsentrasi fosfat anorganik sebanyak 374 mg.L⁻¹, lebih kecil dibandingkan dengan isolat *Azospirillum* sp. HR152 dengan populasi 8,538 log CFU.mL⁻¹ menghasilkan konsentrasi fosfat anorganik terlarut sebesar 310,67 mg.L⁻¹. Hal ini diduga disebabkan karena potensi dari tiap isolat memiliki aktivitas yang berbeda.

Isolat *Azospirillum* spp. asal lahan pasir besi yang diteliti pada penelitian ini menunjukkan kemampuan yang tinggi dalam memproduksi hormon tumbuh IAA pada medium *Nutrient Broth* 50%. Isolat yang memiliki aktivitas produksi IAA tertinggi adalah isolat *Azospirillum* sp. HR92 yaitu menghasilkan konsentrasi sebanyak 97,02 mg.L⁻¹ pada jam ke-48 pengamatan (Tabel 2). Isolat *Azospirillum* sp. HR154, HR124, dan HR152 menunjukkan kemampuan yang relatif sama dalam menghasilkan IAA, berturut-turut sebesar 48,63; 49,39; dan 44,29 mg.L⁻¹ pada pengamatan 48 jam, sedangkan isolat *Azospirillum* sp. HR141 memperlihatkan kemampuan paling rendah dengan konsentrasi IAA sebesar 28,01 mg.L⁻¹. Hasil tersebut hampir sama dengan yang diproduksi oleh enam isolat *Azospirillum* spp. (HR11, KP35, KR13, HP51, KP11 dan KR66) asal rizosfer tumbuhan di lahan pasir besi. Keenam isolat tersebut berturut-turut mampu menghasilkan konsentrasi IAA sebanyak 58,84; 50,25; 41,83; 38,41, 36,05 dan 32,20 µg mL⁻¹, lebih tinggi dibandingkan dengan *A. lipoferum* DSM 1840^T, *A. halopraeferens* DSM 3675^T, dan *A. brasilense* DSM 1690^T yang menghasilkan konsentrasi IAA sebanyak 20,02; 14,80 dan 5,73 µg mL⁻¹ pada medium NB ditambah triptofan sebesar 200 µg.mL⁻¹ pada pengamatan 48 jam (Oedjijono *et al.*, 2014). (Tabel 2)

Produksi IAA bakteri antara lain dipengaruhi oleh jenis medium, ketersediaan triptofan sebagai prekursor (Bashan *et al.*, 2004), waktu inkubasi, pH, dan sumber karbon (Ona *et al.*, 2003; Ona *et al.*, 2005). Triptofan merupakan suatu asam amino dengan gugus indol sebagai

prekursor utama pembentukan IAA. Bakteri tertentu mampu menghasilkan enzim triptofanase yang mengkatalisis penguraian gugus indol. Indol akan menumpuk sebagai metabolit dalam media kultur yang dapat ditentukan dengan reagen Salkowski (Glick, 1995). Produksi IAA *Azospirillum* spp. semakin tinggi dengan meningkatnya konsentrasi triptofan dalam medium (Tien *et al.*, 1979; Moghaddam *et al.*, 2012). Meskipun demikian, *A. brasilense* mampu menghasilkan IAA dalam medium tanpa triptofan tetapi ditambah dengan amonium (NH_4) yang ditumbuhkan secara aerob (Horeman & Vlassak, 1985). Produksi IAA *Azospirillum* meningkat pada kondisi pH asam, karena faktor sigma diregulasi oleh kondisi asam dan kondisi tersebut bertanggung jawab bagi kelangsungan respon pH terhadap ekspresi gen *ipdC* (Vande-Broek *et al.*; 2005; Ona *et al.*, 2005).

Aktivitas siderofor dilakukan secara kualitatif dengan mengamati adanya pembentukan warna orange di sekitar koloni bakteri sebagai hasil aktivitas dari siderofor. Siderofor akan melepaskan ikatan pigmen antara CAS-HDTMA dengan Fe sehingga warna yang awalnya biru-hijau akan berubah menjadi orange. Medium yang digunakan pada pengamatan karakter ini adalah medium *Chrome Azurol Sulfate* (CAS) *Agar* yang sangat peka dengan adanya perubahan ion Fe. Medium ini menggunakan CAS sebagai indikator warna yang berikatan dengan Fe.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa seluruh isolat *Azospirillum* spp. asal lahan pasir besi yang diuji secara kualitatif mampu menghasilkan siderofor. Hal ini ditandai dengan terbentuknya warna orange di sekitar koloni isolat *Azospirillum* spp. yang menandakan adanya aktivitas pemisahan Fe dari kompleks warna CAS-Fe-HDTMA.

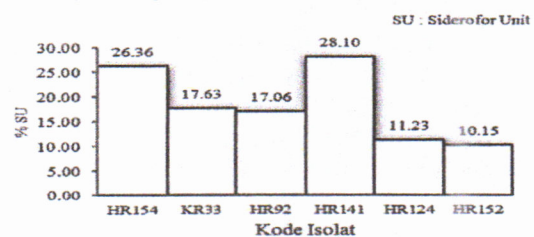
Hasil pengukuran produksi siderofor secara kuantitatif menunjukkan bahwa isolat *Azospirillum* sp. HR141 menghasilkan siderofor paling tinggi dibandingkan isolat lainnya yaitu sebesar 28,10 % (Gambar 1), diikuti oleh isolat HR154 sebesar 26,36 % sedangkan terendah adalah isolat HR152 dengan siderofor unit sebesar 10,15 %. Pengukuran siderofor unit didasarkan pada perbandingan nilai absorbansi blanko dengan absorbansi sampel pada panjang gelombang 630 nm, karena pada panjang gelombang tersebut warna biru diserap maksimal sedangkan warna lain akan menghasilkan nilai absorbansi yang lebih rendah (Schwyn & Neilands, 1987). Siderofor memiliki afinitas yang sangat tinggi terhadap besi sehingga akan mengurangi ketersediaan besi di lingkungan dan berdampak pada terhambatnya pertumbuhan fungi patogen tanaman (Whipps, 2001). *A. brasilense* strain REC2 dan REC3 mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman secara tidak langsung dengan cara menghasilkan siderofor yang bersifat antifungi terhadap jamur *Colletotrichum acutatum* (Tortora *et al.*, 2011). (Gambar 1)

Sebanyak 4 isolat *Azospirillum* spp. (HR154, HR92, HR141, HR152) memperlihatkan kemampuan dalam menghasilkan ACC-deaminase secara kualitatif, berdasarkan pertumbuhan koloni tampak (*visible colony*) pada medium *Dworkin-Foster* (Tabel 3). Hasil positif dari

pengujian ini apabila koloni tampak tumbuh pada medium ACC dan tidak tumbuh pada medium DF tanpa penambahan sumber nitrogen. ACC merupakan prekursor dari hormon etilen yang pada konsentrasi tertentu dibutuhkan dalam tahapan pematangan dormansi biji. Konsentrasi etilen yang terlalu tinggi setelah tahapan tersebut mengakibatkan perkembangan akar menjadi terganggu sehingga diperlukan mekanisme untuk mengatur konsentrasi etilen agar tidak bersifat menghambat pertumbuhan akar. RPPT yang memiliki kemampuan menghasilkan enzim ACC-deaminase akan berperan dalam menjaga konsentrasi etilen pada level yang sesuai dengan inisiasi perkembangan akar. Bakteri penghasil ACC-deaminase memiliki kecenderungan untuk menekan konsentrasi etilen saat terjadi cekaman lingkungan seperti banjir, logam berat, kekeringan, salinitas yang tinggi, dan adanya patogen tanaman yang akan memacu peningkatan aktivitas pembentukan etilen (Penrose & Glick, 2003). (Tabel 3)

Seluruh isolat *Azospirillum* spp. uji tidak mampu menghambat pertumbuhan *R.solani*, *F. oxysporum*, *Cercospora* sp., maupun *Aspergillus* sp.. Hal ini diduga karena isolat *Azospirillum* spp. tidak mampu menghasilkan senyawa antibiotik ataupun enzim hidrolitik seperti selulase atau kitinase, meskipun bakteri uji memiliki kemampuan menghasilkan siderofor. Persentase siderofor unit yang tidak terlalu tinggi berpengaruh terhadap kemampuan isolat *Azospirillum* sp. dalam menekan pertumbuhan fungi patogen. Mikroorganisme biokontrol minimal memiliki salah satu mekanisme dalam menekan penyakit yang disebabkan oleh patogen, antara lain produksi antibiotik dan atau siderofor, dan kemampuan menginduksi ketahanan sistemik tanaman (Tilak *et al.*, 2010).

Keenam isolat *Azospirillum* spp. (HR154, KR33, HR124, HR92, HR141, HR152) diketahui memiliki kemampuan menambat N_2 (Oedjijono *et al.*, 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa keenam isolat bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat, menghasilkan IAA maupun siderofor tetapi tidak mampu menghambat pertumbuhan fungi patogen; dan empat isolat (HR154, HR92, HR141, HR152) mampu menghasilkan ACC-deaminase. Berdasarkan karakteristik kemampuan tersebut mengindikasikan bahwa keenam isolat memiliki potensi sebagai agensia RPPT, terutama isolat HR154, HR92, HR141, dan HR152. Penelitian terkait aplikasi isolat-isolat tersebut pada tanaman perlu dilakukan agar potensinya sebagai agensia RPPT dapat diketahui.



Gambar 1. Estimasi Siderofor Unit Isolat *Azospirillum* Spp. Asal Lahan Pasir Besi.

Tabel 1. Kemampuan Isolat *Azospirillum* spp. Dalam Pelarutan Fosfat

| Kode Isolat | Uji Kualitatif | Kemampuan Pelarutan Fosfat | | | pH Medium | | Populasi(Log CFU.ml ⁻¹) | |
|-------------|----------------|----------------------------|-----------|------------------------------------------|-----------------|------|-------------------------------------|-------|
| | | Indeks Fosfat (%) | Pelarutan | Estimasi Anorganik (mg.L ⁻¹) | Fosfat Terlarut | Awa | | Akh |
| HR154 | + | 118,63 ± 1,75 | | 374 ± 55,07 | | 5,83 | 5,4 | 8,462 |
| KR33 | + | 135,38 ± 5,26 | | 270,33 ± 70,47 | | 5,94 | 5,6 | 8,447 |
| HR92 | + | 122,10 ± 10,15 | | 327 ± 90,44 | | 5,86 | 5,4 | 8,462 |
| HR141 | + | 123,67 ± 10,15 | | 377 ± 89,72 | | 5,86 | 5,0 | 8,820 |
| HR124 | + | 110,15 ± 5,13 | | 302,33 ± 57,73 | | 5,91 | 5,3 | 8,415 |
| HR152 | + | 116,36 ± 1,79 | | 310,67 ± 8,08 | | 5,87 | 5,4 | 8,538 |

Tabel 2. Konsentrasi IAA Yang Dihasilkan Oleh Isolat *Azospirillum* Spp.

| Kode Isolat | Konsentrasi IAA (mg.L ⁻¹) | | |
|-------------|---------------------------------------|--------|--------|
| | 0 jam | 24 jam | 48 jam |
| HR154 | 3,63 | 5,28 | 48,63 |
| KR33 | 1,52 | 42,5 | 36,60 |
| HR92 | 4,19 | 75,8 | 97,02 |
| HR141 | 2,21 | 19,7 | 28,01 |
| HR124 | 3,77 | 56,7 | 49,39 |
| HR152 | 2,75 | 52,5 | 44,29 |

Tabel 3. Produksi ACC-Deaminase Isolat *Azospirillum* Spp. Pada Medium DF

| Kode Isolat | Pertumbuhan pada medium | | | Keterangan |
|-------------|----------------------------------------------------|-------|-----|-------------------|
| | DF (NH ₄) ₂ SO ₄ | + ACC | + F | |
| R154 | H | + | + | ACC-Deaminase Non |
| 33 | KR | + | + | ACC-Deaminase |
| R92 | H | + | + | ACC-Deaminase |
| R141 | H | + | + | ACC-Deaminase Non |
| R124 | H | + | + | ACC-Deaminase |
| R152 | H | + | + | ACC-Deaminase |

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa bakteri *Azospirillum* spp. isolat HR154, KR33, HR124, HR92, HR141, dan HR152 berpotensi sebagai kandidat agensia RPPT.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F. Iqbal, A. & Khan, M.S.. 2008. Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbiological Research* 163: 173-181.
- Anonim. 2012. The construction of an iron sand processing plant in Purworejo Regency. (www.central-java.com/uploaded/pasir%20besi_purworejo.pdf). Diakses tanggal 25 Juni 2012.
- Baldani, J.E., Krieg, N.R., Baldani, V.L.D., Hartmann, A. & Dobereiner, J. 2005. Genus II. *Azospirillum*. In: Brenner et al. (Eds.). *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology* pp. 7-26, Second edition, Vol. 2, Part C, Springer.
- Bashan, Y. 1999. Interactions of *Azospirillum* spp. in soils: a review. *Biol. Fertil. Soils* 29: 246-256.
- Bashan, Y. & Holguin, G. 1997. *Azospirillum*-plant relationship: environmental and physiological advances (1990-1996). *Can. J. Microbiol.* 43: 103-121.
- Bashan, Y., Holguin, G. & de-Bashan, L.E. 2004. *Azospirillum*-plant relationship: physiological, molecular, agricultural, and environmental advances (1997-2003). *Can. J. Microbiol.* 50: 521-577.
- Bloembergen, G.V. & Lugtenberg, B.J.J. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 343-350.
- Bowen, G.D. & Rovira, A.D. 1999. The Rhizosphere and its management to improve plant growth. *Adv. Agron.* 66: 1-102.
- Djajakirana, G., Tjahjandari, D. & Supijatno. 2009. *Reklamasi lahan bekas tambang pasir besi melalui teknik ameliorasi in situ bahan organik*. Laporan Penelitian, IPB Bogor.
- Glick, B.R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. *Can. J. Microbiol.* 4: 109-117.
- Horeman, S. & Vlassak, K. 1985. Production of indol-3-acetic acid by *Azospirillum brasilense*. In W. Klingmuller (Ed.), *Azospirillum III: genetics, physiology, ecology*, Springer-Verlag, Berlin.
- Hussain, M. I., Ashgar, H. N., Arshad, M. & Shahbaz, M. 2013. Screening of multi-traits rhizobacteria to improve maize growth under axenic conditions. *The Journal of Animal & Plant Sciences* 23(2) : 514-520.
- Kumar, N.R., Arasu, V.T. & Gunasekaran P. 2002. Genotyping of

- antifungal compounds producing plant promoting rhizobacteria, *Pseudomonas fluorescens*. *Curr. Sci.* **82**: 1463-1466.
- Louden, B.C., Daniel, H. & Aaron, M.L. 2011. Use of blue agar CAS assay for siderophore detection. *Journal of Microbiology and Biology Education* **12**(1): 51-53
- Moghaddam, M.J.M., Emtiazi, G. & Salehi, Z. 2012. Enhanced auxin production by *Azospirillum* pure cultures from plant root exudates. *J. Agr. Sci. Tech.* **14**: 985-994.
- Nguyen, C., Yan, W., Le-Tacon, F. & Lapeyrie, F. 1992. Genetic variability of phosphate solubilizing activity by monocaryotic and dicaryotic mycelia of the ectomycorrhizal fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton. *Plant and Soil* **143**: 193-199.
- Oedjijono, Soetarto, E. S., Moeljopawiro, S. & Djatmiko, H. A. 2014. Promising plant growth promoting rhizobacteria of *Azospirillum* spp. isolated from iron sand soils, Purworejo Coast, Central Java, Indonesia. *Advances in Applied Science Research* **5**(3): 302-308.
- Ona, O., Smets, I., Gysegom, P., Bernaerts, K., Impe, J.V., Prinsen, E. & Vanderleyden, J. 2003. The effect of pH on indole-3-acetic acid (IAA) biosynthesis of *Azospirillum brasilense* sp7. *Symbiosis* **35**: 199-208.
- Ona, O., Impe, J.V., Prinsen, E. & Vanderleyden, J. 2005. Growth and indole-3-acetic acid biosynthesis of *Azospirillum brasilense* Sp245 is environmentally controlled. *FEMS Microbiology Letters* **246**: 125-132.
- Penrose, D.M. & Glick, B.R. 2003. Methods for isolating and characterizing ACC-deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum* **118**: 10-15.
- Ramachandran, K., Srinivasan, V., Hamza, S. & Anandaraj, M. 2007. Phosphate solubilizing bacteria isolated from the rhizosphere soil and its growth promotion on black pepper (*Piper nigrum* L.) cuttings. In Velazquez and Rodriguez-Barrueco (Eds.) *First international Meeting on Microbial Phosphate Solubilization*: 325-331.
- Rodriguez, H. & Fraga, R. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnology Advances* **17**: 319-339.
- Saharan, B.S. & Nehra, V. 2011. Plant growth promoting rhizobacteria: A critical review. *Life Sciences and Medicine Research* **2011**: 1-30.
- Schwyn, B. & Neilands, J.B. 1987. Universal chemical assay for the detection and determination of siderophores. *Analytical Biochem.* **160**: 47-56.
- Seshadri, S., Muthukumarasamy, R., Lakshminarasimhan, C. & Ignacimuthu, S. 2000. Solubilization of inorganic phosphates by *Azospirillum halopraeferans*. *Current Science* **79**(5): 565-567.
- Siddiqui, Z.A. 2010. PGPR: *Prospective biocontrol agents of plant pathogens*. In Siddiqui (Ed.) *PGPR: Biocontrol and biofertilization*. Springer, Netherlands.
- Steenhoudta, O. & Vanderleyden, J. 2006. *Azospirillum*, a free-living nitrogen-fixing bacterium closely associated with grasses: genetic, biochemical and ecological aspects. *FEMS Microbiol. Rev.* **24**: 487-506.
- SubbaRao, N.S. 1982. *Biofertilizer in agriculture*. Oxford and IBH Publishing Co., New Delhi, Bombay, Calcuta.
- Tahir, M., Mirza, M.S., Zaheer, A., Dimitrov, M.R., Smidt, H. & Hameed, S. 2013. Isolation and identification of phosphate solubilizer *Azospirillum*, *Bacillus* and *Enterobacter* strains by 16S rRNA sequence analysis and their effect on growth of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Australian Journal of Crop Science* **7**(9): 1284-1292.
- Tien, T.M., Gaskins, M.H. & Hubbell, D.H. 1979. Plant growth substances produced by *Azospirillum brasilense* and their effect on the growth of pearl millet (*Pennisetum americanum* L.). *Applied and Environmental Microbiology* **37**(5): 1016-1024.
- Tilak, K.V.B.R., Pal, K.K. & Dey, R. 2010. *Microbes for sustainable agriculture*. I.K. International Publishing House Pvt. Ltd., New Delhi, India.
- Tortora, M.L., Diaz-Ricci, J.C. & Raul, O.P. 2011. *Azospirillum brasilense* siderophores with antifungal activity against *Colletotrichum acutatum*. *Arch. Microbiol.* **193**: 275-286.
- Vande-Broek, A., Gysegom, P., Ona, O., Hendriks, N., Prinsen, E., Van Impe, J. & Vanderleyden, J. 2005. Transcriptional analysis of the *Azospirillum brasilense* indole-3-pyruvate decarboxylase gene and identification of a cis-acting sequence involved in auxin responsive expression. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **18**: 311-323.
- Whipps, J.M. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Experiment. Bot.* **52**: 487-511.
- Yasir, I.Z. 2011. Eksplorasi pasir besi pantai Adipala Cilacap Jawa Tengah. <http://tri-online.biz/eksplorasi-pasir-besi-pantai-adipala-cilacap-jawa-tengah/>. Diakses tanggal 25 Juni 2012.