

PENGARUH INOKULASI BAKTERI ENDOFIT DAN EKOENZIM TERHADAP PERTUMBUHAN BIBIT KAYU KUKU (*Pericopsis mooniana* Thw.)

*Effect of Endophytic Bacteria Inoculation and Eco-enzyme on Kayu Kuku
(Pericopsis mooniana Thw.) Seedlings Growth*

Arum Sekar Wulandari^{1*}, Yunik Istikorini¹, dan Yus Septiawati¹

(Diterima 17 Januari 2023 / Disetujui 21 Maret 2023)

ABSTRACT

Improving the physical quality of kayu kuku seedlings can be done by applying endophytic bacteria and eco-enzymes. The aims of this study were to examine (1) the effect of inoculation of endophytic bacteria on the germination of kuku wood seeds, and (2) the effect of inoculation and application of eco-enzymes on the growth of kuku wood seedlings. The endophytic bacteria were isolated from the shoot of *Shorea balangeran* plant with the codes SBP 1, SBP 2, and SBP 19. Bacterial application was conducted on seeds and seedlings, while eco-enzyme application was only conducted on kayu kuku seedlings. The results of the research at the seed level showed that inoculation of the endophytic bacteria SBP 19 could accelerate the germination rate of kayu kuku seeds. At the seedling level, inoculation of endophytic bacteria SBP 1, SBP 2, SBP 19 and application of eco-enzymes had no significant effect on height, diameter, number of new leaves, total fresh weight and total dry weight of kayu kuku seedlings. The shoot root ratio of kayu kuku seedlings ranged from 2.66-5.04 and the seedlings quality index ranged from 0.41-0.93, indicating that the seedlings were ready to be transplanted into the field. In general, inoculation of endophytic bacteria had a significant effect on kayu kuku seed germination, but had not been able to increase the growth of kayu kuku seedlings during the 14 weeks of observation.

Keywords: *Pericopsis mooniana* Thw., seed dormancy, seed germination, seedling quality index, shoot root ratio

ABSTRAK

Peningkatan mutu fisik bibit kayu kuku, dapat dilakukan dengan aplikasi bakteri endofit dan ekoenzim. Tujuan penelitian ini adalah mengkaji (1) pengaruh inokulasi bakteri endofit terhadap perkecambahan benih kayu kuku, dan (2) pengaruh inokulasi dan aplikasi ekoenzim terhadap pertumbuhan bibit kayu kuku. Bakteri endofit yang digunakan berasal dari pucuk tanaman *Shorea balangeran* dengan kode SBP 1, SBP 2, dan SBP 19. Aplikasi bakteri dilakukan pada benih dan bibit kayu kuku, sedangkan aplikasi ekoenzim hanya dilakukan pada bibit kayu kuku. Hasil penelitian pada tingkat benih, menunjukkan inokulasi bakteri endofit SBP 19 dapat mempercepat laju kecambah benih kayu kuku. Pada tingkat bibit, inokulasi bakteri endofit SBP 1, SBP 2, SBP 19 dan aplikasi ekoenzim tidak berpengaruh terhadap tinggi, diameter, jumlah daun baru, berat basah total, dan berat kering total bibit kayu kuku. Nilai NPA bibit kayu kuku berkisar antara 2,66-5,04 dan nilai IMB berkisar antara 0,41-0,93, yang menunjukkan bibit siap untuk dipindahkan ke lapangan. Secara umum, inokulasi bakteri endofit berpengaruh terhadap perkecambahan benih kayu kuku, tetapi belum dapat meningkatkan pertumbuhan bibit kayu kuku selama 14 minggu pengamatan.

Kata kunci: daya kecambah benih, dormansi benih, kayu kuku (*Pericopsis mooniana* Thw.), nisbah pucuk akar, indeks mutu bibit

¹ Departemen Silvikultur, Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, IPB University
Jl. Ulin Kampus IPB, Dramaga, Bogor, Jawa Barat, Indonesia 16680

* Penulis korespondensi:

e-mail: rr_arum@yahoo.com

PENDAHULUAN

Kayu kuku (*Pericopsis mooniana* Thw.) merupakan salah satu spesies pohon endemik dari famili Fabaceae yang tumbuh secara alami di wilayah Sulawesi dan Pulau Borneo. Kayu kuku digolongkan sebagai kayu mewah karena memiliki kelas awet II dan kelas kuat I sehingga dapat digunakan sebagai bahan baku konstruksi, vinir, mebel dan barang kerajinan (Alfaizin *et al.* 2016). Lembaga *Internasional Union for Conservation of Nature* (IUCN) menetapkan kayu kuku sebagai spesies flora yang rawan punah (Nursyamsi dan Toaha 2017).

Keberadaan kayu kuku di habitat aslinya Cagar Alam Lamedae, Sulawesi Tenggara semakin berkurang karena permudaan alami kayu kuku yang lama, persentase tumbuh yang rendah, dan eksploitasi yang berlebihan. Perbanyak generatif kayu kuku dapat dilakukan setiap saat karena merupakan jenis pohon yang selalu berbuah setiap tahun dengan periode pembuahan bulan Juni sampai dengan September (Suhartati *et al.* 2015) dan benihnya termasuk ke dalam golongan benih ortodoks (Alfaizin *et al.* 2016). Meskipun ketersediaan buahnya berlimpah, perbanyak generatif kayu kuku mengalami kendala akibat dormansi benih yang disebabkan oleh kulit benih yang keras dan kedap air (dormansi fisik), sehingga menjadi penghalang bagi air dan oksigen untuk masuk ke dalam benih (Sandi *et al.* 2014).

Benih yang memiliki dormansi seperti kayu kuku dapat dipatahkan dengan skarifikasi melalui perendaman dengan air panas, zat kimia, maupun hormon (Suhartati *et al.* 2015). Perlakuan perendaman dengan air panas bertujuan memudahkan penyerapan air oleh benih (Asyiah *et al.* 2019). Selain perlakuan perendaman dengan air panas, penggunaan agen hayati juga mampu memberikan dampak positif terhadap perkecambahan benih dan pertumbuhan bibit (Miljakovic *et al.* 2022). Banyak jenis agen hayati yang dapat berasosiasi dengan tanaman, salah satunya adalah bakteri endofit.

Bakteri endofit merupakan jenis bakteri non-patogen yang hidup dan berasosiasi di jaringan tanaman tanpa menimbulkan penyakit bagi tanaman tersebut (Puspita *et al.* 2018). Manfaat bakteri endofit yang sudah diteliti di antaranya menurunkan jumlah populasi nematoda *Pratylenchus coffea* dan meningkatkan pertumbuhan bibit tanaman kopi arabika (Damayanti 2018), meningkatkan tinggi tanaman, diameter batang, jumlah daun dan luas daun tanaman kakao (Puspita *et al.* 2018), dan meningkatkan pertumbuhan tanaman karet (Hidayati *et al.* 2014). Selain penggunaan agen hayati, penambahan pupuk organik juga diperlukan untuk mempertahankan sifat fisik tanah dan mensuplai kebutuhan hara tanaman (Sodakh *et al.* 2017).

Penggunaan pupuk organik digunakan sebagai pengganti dari pupuk kimia yang kurang ramah lingkungan. Salah satu jenis pupuk organik yang mulai banyak diteliti dan dipakai adalah ekoenzim. Ekoenzim

merupakan bahan organik komposit yang terdiri atas asam organik, protein dan garam mineral yang dihasilkan dari fermentasi limbah sayuran, buah-buahan atau kulit buah, gula dan air (Neupane dan Khadka 2019). Penelitian ini bertujuan: mengkaji pengaruh inokulasi bakteri endofit terhadap perkecambahan kayu kuku, dan mengkaji pengaruh inokulasi bakteri endofit dan aplikasi ekoenzim terhadap pertumbuhan bibit kayu kuku.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian berlangsung dari bulan September 2020 sampai dengan Mei 2021. Lokasi penelitian adalah di Rumah Kaca, Laboratorium Silviculture, dan Laboratorium Patologi Hutan Departemen Silviculture, Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, Institut Pertanian Bogor.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bak kecambah, plastik, polibag ukuran 18 cm x 18 cm, timbangan dengan ketelitian 0.01, oven, autoklaf, *laminar air flow*, *microwave*, cawan petri, *shaker*, mikropipet, gelas ukur, segitiga penyebar sel, wadah plastik, *sprayer*, kaliper digital, sterofom, tabung reaksi, sudip, kompor, panci, mistar, kamera, alat tulis, *software Microsoft Excel* 2016 dan *IBM SPSS Statistics version* 25. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah benih dan bibit kayu kuku, bakteri endofit, alkohol 70% dan 90%, air steril, NaOH, media *nutrient agar* (NA), media *nutrient broth* (NB), molase, ekoenzim, pasir zeolit, tanah, kompos, kokopit dan arang sekam.

Prosedur Penelitian

Tahap Persiapan

A. Pengunduhan dan ekstraksi benih kayu kuku

Buah kayu kuku diunduh di sekitar Fakultas Kehutanan dan Lingkungan, Institut Pertanian Bogor (koordinat: 6033'24.59"S 106043'45,11"E). Selanjutnya diekstraksi untuk diambil benihnya dan diseleksi dengan cara memilih benih yang berwarna oranye kecoklatan, ukuran seragam, tidak ada kerusakan fisik, serta bebas hama dan penyakit.

B. Persiapan media semai dan media tanam

Media tabur yang digunakan yaitu pasir zeolit. Media tanam untuk penyapihan yang digunakan adalah tanah, kompos, kokopit, dan arang sekam. Pasir zeolit dan tanah yang digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C, pada tekanan 1 atm selama 1 jam. Media tanah steril, kompos, kokopit, dan arang sekam dicampur dengan perbandingan 5:2:2:1 (v/v/v/v). Media yang

sudah tercampur dimasukkan ke dalam polibag ukuran 18 cm x 18 cm.

C. Inokulum bakteri endofit

Bakteri endofit yang digunakan diisolasi dari bagian pucuk tanaman *Shorea balangeran*, merupakan koleksi Laboratorium Patologi Hutan, FAHUTAN IPB; dengan kode isolat SBP 1, SBP 2, dan SBP 19. Bakteri-bakteri tersebut diremajakan terlebih dahulu pada medium NA dan diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Biakan murni bakteri endofit kemudian dipindahkan ke dalam medium NB dan dikocok dengan *shaker* selama 24 jam. Media NB yang mengandung bakteri digunakan sebagai sumber inokulum. Banyaknya bakteri yang diaplikasikan adalah 10^9 cfu.mL⁻¹.

D. Larutan ekoenzim

Larutan ekoenzim terbuat dari campuran kulit mangga + pepaya, molase, dan air; dengan perbandingan 3:1:10 (b/b/b). Campuran tersebut difermentasikan selama 40 hari. Setelah terfermentasi, campuran tersebut dipisahkan antara bagian padat dan bagian cair. Cairan yang dihasilkan digunakan sebagai larutan stok ekoenzim, dan disimpan pada suhu ruang. Konsentrasi larutan ekoenzim yang digunakan adalah 5%, dengan pH larutan berkisar 5,6-6,0.

Inokulasi Bakteri Endofit pada Benih Kayu Kuku

A. Rancangan percobaan

Rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan satu faktor yaitu jenis bakteri endofit. Faktor jenis bakteri endofit terdiri atas 4 taraf yaitu kontrol (tanpa bakteri endofit), bakteri endofit dengan kode isolat SBP 1, bakteri endofit dengan kode isolat SBP 2, dan bakteri endofit dengan kode isolat SBP 19. Masing-masing taraf terdiri atas 3 ulangan, 1 ulangan terdiri atas 50 benih kayu kuku, sehingga total percobaan terdapat 600 benih kayu kuku.

B. Pematahan dormansi benih dan inokulasi bakteri endofit

Pematahan dormansi benih kayu kuku dilakukan dengan menggunakan air panas pada suhu 80 °C selama 20 menit. Setelah itu, benih direndam pada biakan bakteri endofit selama 24 jam. Sebagai kontrol, benih direndam dengan air suhu ruang. Benih kayu kuku kemudian dikecambahkan dalam media pasir zeolit. Jumlah benih kayu kuku yang dikecambahkan adalah 50 benih per bak kecambah.

C. Pengamatan

Pengamatan dilakukan selama 48 hari dengan mencatat jumlah kecambah yang tumbuh. Peubah yang diamati selama penelitian adalah daya kecambah benih, laju kecambah, nilai kecambah, potensi tumbuh maksimum, dan kecepatan tumbuh kecambah kayu kuku.

Penyapihan dan Seleksi Bibit

Kecambah kayu kuku umur 4 minggu sudah siap untuk disapih. Penyapihan dilakukan pada sore hari dan

kecambah yang sudah disapih ditempatkan pada lokasi yang teduh dan dидiamkan selama 2 minggu agar beradaptasi dengan media yang baru. Untuk selanjutnya kecambah kayu kuku yang sudah disapih dan sudah beradaptasi dengan media sapih disebut sebagai bibit kayu kuku. Bibit kayu kuku kemudian dipindahkan ke rumah kaca.

Inokulasi Bakteri Endofit dan Ekoenzim pada Bibit Kayu Kuku

A. Rancangan percobaan

Rancangan percobaan menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) pola tersarang (*nested*) yang terdiri atas dua faktor yaitu jenis bakteri endofit dan ekoenzim. Faktor utama sebagai petak utama yang terdiri dari 4 taraf, yaitu kontrol, jenis bakteri SBP 1, SBP 2, dan SBP 19. Ekoenzim merupakan anak petak yang terdiri atas 2 taraf, yaitu tanpa pemberian ekoenzim atau kontrol dan dengan pemberian ekoenzim. Masing-masing taraf terdiri atas 3 ulangan dengan setiap ulangan terdiri atas 6-unit percobaan.

B. Aplikasi isolat bakteri endofit dan larutan ekoenzim pada tanaman

Semai kayu kuku yang telah disapih diinokulasi dengan bakteri endofit dengan cara menyiramkan larutan bakteri endofit pada media tanam sebanyak 10 mL (kepadatan populasi bakteri 10^9 cfu.mL⁻¹) secara rata di atas permukaan media. Semai yang sudah disapih, selanjutnya disebut sebagai bibit kayu kuku. Inokulasi bakteri endofit dilakukan setiap 4 minggu sekali sebanyak 3 kali pengaplikasian selama waktu pengamatan.

Larutan ekoenzim dengan konsentrasi ekoenzim 5% sebanyak 10 mL disiramkan pada media tanam kayu kuku setiap 4 minggu sekali dengan jarak pengaplikasian dengan inokulasi bakteri endofit yaitu 2 minggu. Pengaplikasian diulang sebanyak 3 kali selama waktu pengamatan berlangsung. Pemeliharaan dilakukan selama 14 minggu dengan cara menyiram tanaman pada pagi atau sore hari, pencabutan gulma yang tumbuh, pengendalian hama secara mekanik dan penyemprotan pestisida nabati pada tanaman terserang hama.

C. Pengamatan

Pengamatan dan pengambilan data dilakukan selama 14 minggu. Peubah yang diamati adalah tinggi (cm), diameter (mm), jumlah daun baru (helai), berat basah total (g), berat kering total (g), nisbah pucuk akar (NPA) dan indeks mutu bibit (IMB). Tinggi bibit diukur setiap 1 minggu sekali, diameter dan jumlah daun baru diukur setiap 4 minggu sekali. Pengukuran biomassa pucuk dan akar dilakukan pada akhir pengamatan (minggu ke-14).

Pengolahan dan Analisis Data

Pengujian sidik ragam dengan uji F dilakukan untuk mengetahui pengaruh perlakuan dalam penelitian

ini. Data diolah menggunakan software IBM SPSS *Statistics version 25*, jika:

- Nilai $P\text{-value} > \alpha$ (0.05), maka perlakuan tidak memberikan pengaruh nyata terhadap daya kecambah, laju kecambah, nilai kecambah, potensi tumbuh maksimum, kecepatan tumbuh, tinggi tanaman, diameter tanaman, jumlah daun tanaman, berat basah total, berat kering total, dan kadar air tanaman.
- Nilai $P\text{-value} < \alpha$ (0.05), maka perlakuan memberikan pengaruh nyata terhadap daya kecambah, laju kecambah, nilai kecambah, potensi tumbuh maksimum, kecepatan tumbuh, tinggi tanaman, diameter tanaman, jumlah daun tanaman, berat basah total, berat kering total, dan kadar air tanaman. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut *Duncan's Multiple Range Test*.

Nilai NPA mengacu pada klasifikasi Haase (2009) yang menyatakan nilai NPA ideal bibit adalah 1-3. NPA yang nilainya mendekati 1 pada umumnya menghasilkan daya hidup dan adaptasi tumbuh yang lebih tinggi. Nilai IMB mengacu pada Sudomo dan Santosa (2011) yang menyatakan bahwa nilai IMB > 0.09 menunjukkan kualitas bibit yang baik untuk ditanam di lapangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Aplikasi Bakteri Endofit pada Benih Kayu Kuku

Inokulasi bakteri endofit pada benih kayu kuku hanya berpengaruh signifikan terhadap satu peubah dari lima peubah yang diamati yaitu pada peubah laju kecambah. Hasil sidik ragam pada laju perkecambahan benih mengindikasikan adanya perbedaan signifikan tetapi tidak untuk peubah daya kecambah, potensi tumbuh maksimum, dan kecepatan tumbuh. Inokulasi bakteri endofit dapat mempercepat laju perkecambahan benih kayu kuku. Benih kayu kuku yang diinokulasi bakteri endofit SBP 19 memberikan nilai laju perkecambahan tercepat dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Laju perkecambahan benih kayu kuku yang diberikan bakteri endofit SBP 19 lebih cepat 4 hari dibandingkan dengan perlakuan lainnya (Tabel 1).

Benih kayu kuku berkecambah tidak serempak, pengamatan sampai hari ke-63 setelah tanam menunjukkan kurva perkecambahan masih meningkat. Benih kayu kuku pada perlakuan kontrol, inokulasi bakteri SBP2 dan SBP19 mulai berkecambah pada hari ke-8 setelah tanam, sedangkan benih kayu kuku dengan inokulasi bakteri SBP1 mulai berkecambah pada hari ke-9 setelah tanam. Benih kayu kuku yang diberi perlakuan dengan bakteri endofit SBP19 memiliki daya kecambah tertinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Pada hari ke-63 daya kecambah benih kayu kuku mencapai 34%. Pada hari ke-120 setelah tanam, daya kecambah benih kayu kuku mencapai 69%.

Aplikasi Bakteri Endofit dan Ekoenzim pada Bibit Kayu Kuku

Presentase hidup bibit kayu kuku yang diberi perlakuan bakteri endofit dan ekoenzim adalah 100%. Selama 14 minggu pengamatan ditemukan adanya serangan hama berupa ulat kantong dan kutu putih dengan luas serangan sebesar 8%. Pengendalian secara mekanik dilakukan untuk mengatasi serangan hama ini. Secara umum, bibit kayu kuku umur 14 minggu menunjukkan performa yang baik (Gambar 1).

Hasil sidik ragam menunjukkan inokulasi bakteri endofit pada bibit kayu kuku tidak berpengaruh signifikan terhadap semua peubah pertumbuhan bibit kayu kuku yang diamati (tinggi, diameter, jumlah daun, berat basah total, berat kering total dan kadar air bibit kayu kuku). Perlakuan ekoenzim yang tersarang dalam perlakuan inokulasi bakteri endofit juga belum dapat meningkatkan pertumbuhan bibit kayu kuku (Tabel 2).



Gambar 1 Performa bibit kayu kuku selama 14 minggu pengamatan.

B1= SBP 1, B2= SBP 2, B3= SBP 19, E0= tanpa ekoenzim, E1= dengan ekoenzim.

Tabel 1 Pengaruh bakteri endofit terhadap perkecambahan benih kayu kuku setelah 63 hari dikecambahkan

No	Peubah	Satuan	Jenis bakteri endofit				P-value
			Kontrol	SBP 1	SBP 2	SBP 19	
1	Daya kecambah	%	30,67 ^a	31,33 ^a	34,67 ^a	42,67 ^a	0,083 ^{tn}
2	Laju perkecambahan	hari	37,46 ^b	37,59 ^b	37,32 ^b	33,67 ^a	0,004 [*]
3	Potensi tumbuh maksimum	%	30,67 ^a	31,33 ^a	34,67 ^a	42,67 ^a	0,083 ^{tn}
4	Kecepatan tumbuh	%/etmal	1,26 ^a	1,04 ^a	1,25 ^a	1,58 ^a	0,06 ^{tn}

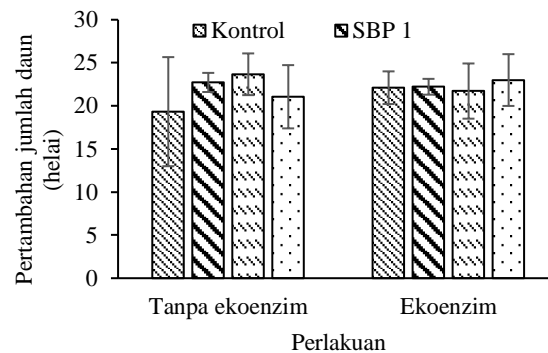
tn = perlakuan tidak berpengaruh signifikan pada selang kepercayaan 95% dengan nilai signifikan ($P\text{-value}$) $> 0,05$ (α).

Inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim belum dapat meningkatkan tinggi bibit kayu kuku. Pertambahan tinggi bibit kayu kuku pada perlakuan kontrol, inokulasi bakteri endofit SBP1, SBP2, dan SBP19 menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan. Semua bibit kayu kuku dalam percobaan ini mengalami pertambahan tinggi yang hampir sama (Gambar 2a). Inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim juga belum dapat meningkatkan diameter bibit kayu kuku. Hasil sidik ragam menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada peubah diameter bibit kayu kuku (Gambar 2b).

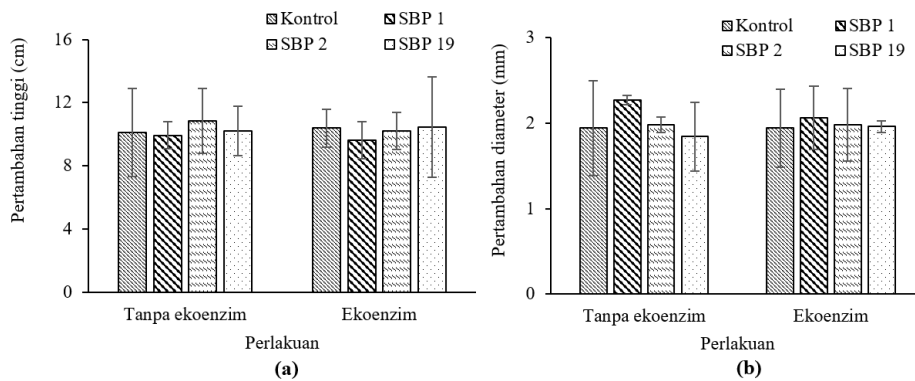
Hasil sidik ragam menunjukkan inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim belum dapat meningkatkan jumlah daun bibit kayu kuku (Gambar 3). Pertambahan jumlah daun bibit kayu kuku sejalan dengan pertambahan tinggi bibit. Penambahan ekoenzim pada bibit kayu kuku memberikan efek yang sama pada peubah jumlah daun untuk semua perlakuan, sedangkan penambahan bakteri endofit memberikan efek yang berbeda terhadap penambahan jumlah daun bibit kayu kuku.

Penambahan bakteri endofit dan ekoenzim belum dapat meningkatkan biomassa tanaman (Gambar 4). Berdasarkan tren data penelitian, penambahan ekoenzim meningkatkan biomassa bibit kayu kuku, tetapi menurunkan efektivitas bakteri SBP1 pada peubah berat basah total (Gambar 4a) dan berat kering total bibit kayu kuku (Gambar 4b).

Nilai IMB bibit kayu kuku yang diberi perlakuan inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim berkisar antara 0,41-0,93. Pemberian ekoenzim dapat meningkatkan nilai IMB pada perlakuan kontrol, tetapi menurunkan efektivitas bakteri SBP 1 dan SBP 2 sehingga nilai IMB pada perlakuan pada perlakuan ini menurun (Gambar 5a). Nilai NPA bibit kayu kuku yang diberi perlakuan inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim berkisar antara 2,6-5,04. Berdasarkan tren data penelitian, pemberian ekoenzim dapat menurunkan nilai NPA perlakuan kontrol, tetapi dapat meningkatkan nilai NPA pada perlakuan inokulasi bakteri SBP 1, SBP 2, dan SBP 19 (Gambar 5b).



Gambar 3 Pengaruh inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim terhadap pertambahan jumlah daun bibit kayu kuku umur 14 minggu setelah perlakuan



Gambar 2 Pengaruh inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim terhadap (a) peubah tinggi dan (b) peubah diameter bibit kayu kuku umur 14 minggu setelah perlakuan

Tabel 2 Rekapitulasi hasil sidik ragam pengaruh inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim terhadap pertumbuhan bibit kayu kuku umur 14 minggu

Peubah	Petak utama : Bakteri endofit	Anak petak (tersarang): Ekoenzim
Tinggi (cm)	0,920 ^{tn}	0,992 ^{tn}
Diameter (mm)	0,603 ^{tn}	0,945 ^{tn}
Jumlah daun (helai)	0,725 ^{tn}	0,700 ^{tn}
Berat basah total (g)	0,683 ^{tn}	0,551 ^{tn}
Berat kering total (g)	0,624 ^{tn}	0,494 ^{tn}

Keterangan: tn = perlakuan tidak berpengaruh signifikan pada selang kepercayaan 95% dengan nilai signifikan (*P-value*) > 0,05 (α).

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman balangeran (*S. balangeran*) dengan kode SBP1, SBP2, dan SBP19. Penggunaan ketiga isolat bakteri endofit memberikan respons positif bagi benih kayu kuku. Hal ini berkaitan dengan pengaruh bakteri endofit yang signifikan terhadap peubah laju kecambah, sehingga hipotesis pertama diterima. Inokulasi bakteri endofit dan penambahan ekoenzim pada bibit kayu kuku menunjukkan tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan bibit, sehingga hipotesis kedua ditolak.

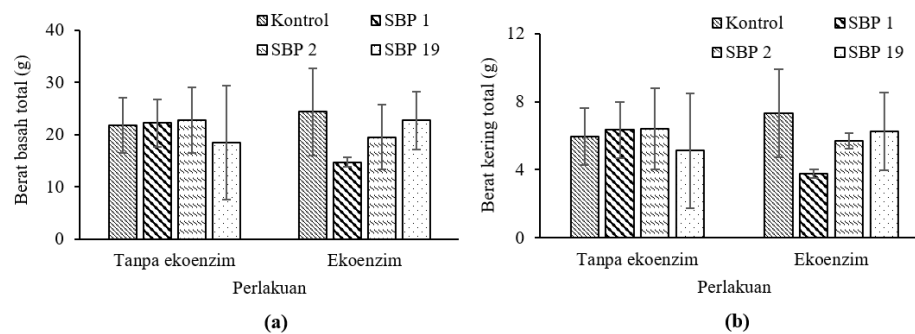
Bakteri endofit telah banyak dipakai sebagai agen hayati pada berbagai jenis tanaman. Beberapa jenis bakteri endofit yang diperoleh dari tanaman lada mempunyai kemampuan untuk melarutkan unsur P, mengikat unsur N dan menghasilkan hormon IAA (Gusmaini dan Kartikawati 2019). Inokulasi bakteri endofit pada tanaman lada dapat meningkatkan berat akar dan tajuk tanaman lada serta menekan jumlah puru dan populasi nematoda di dalam akar (Harni dan Ibrahim 2011). Ekoenzim dapat digunakan sebagai pupuk organik. Pemberian ekoenzim pada tanaman selada memberikan pengaruh signifikan terhadap

pertumbuhan akar dan bobot kering tanaman (Yuliandewi *et al.* 2018).

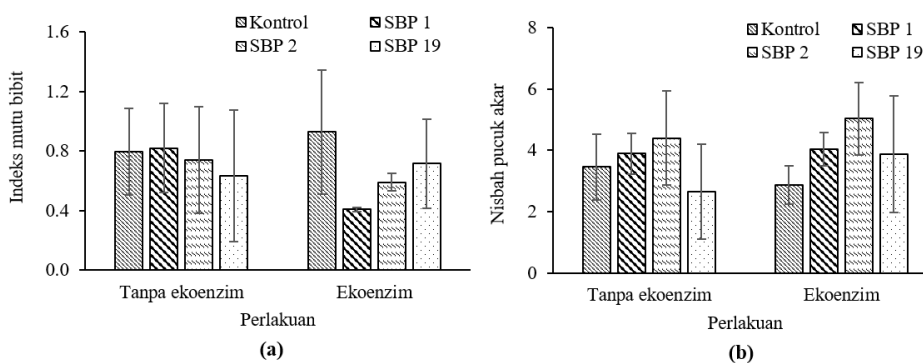
Aplikasi Bakteri Endofit pada Benih Kayu Kuku

Benih kayu kuku tergolong ke dalam tipe benih ortodoks (Alfaizin *et al.* 2016) yang mempunyai dormansi fisik. Dormansi fisik dapat dipatahkan dengan beberapa teknik skarifikasi baik secara mekanik, fisik, maupun kimia (Fathurrahman dan Wangiyana 2018). Pematangan dormansi yang dilakukan pada penelitian ini berupa perendaman benih ke dalam air panas bersuhu 80°C selama 5 menit. Perendaman air panas dimaksudkan untuk melunakkan lapisan kulit benih kayu kuku sehingga dapat mempercepat perkecambahan benih. Perkecambahan benih merupakan proses muncul dan berkembangnya radikula dan plumula yang ada di dalam benih (Marthen *et al.* 2013). Perkecambahan benih meliputi beberapa tahapan, antara lain (1) imbibisi; (2) sekresi hormon dan enzim; (3) hidrolisis cadangan makanan; (4) pengiriman bahan makanan terlarut dan hormon ke daerah titik tumbuh (Sadjadi 2006).

Inokulasi bakteri endofit dengan kode SBP 19 berpengaruh signifikan terhadap laju perkecambahan benih kayu kuku. Inokulasi SBP 19 menghasilkan laju



Gambar 4 Pengaruh inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim terhadap (a) berat basah total (b) berat kering total bibit kayu kuku umur 14 minggu setelah perlakuan



Gambar 5 Pengaruh inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim terhadap nilai: (a) indeks mutu bibit (IMB), (b) nisbah pucuk akar (NPA) bibit kayu kuku umur 14 minggu setelah perlakuan

perkecambahan selama 33,67 hari sedangkan pada kontrol memiliki laju perkecambahan 37,46 hari. Inokulasi bakteri endofit SBP 19 mempercepat laju perkecambahan benih kayu kuku, hal ini diduga karena bakteri endofit yang dapat menghasilkan hormon tertentu (Gusmaini *et al.* 2013). Laju perkecambahan menunjukkan kemampuan benih untuk berkecambah secara cepat pada kisaran waktu tertentu (Oktaviana *et al.* 2016). Laju perkecambahan dengan nilai lebih kecil memiliki rata-rata hari berkecambah yang lebih cepat (Marjenah *et al.* 2021).

Hasil penelitian menunjukkan aplikasi bakteri endofit tidak berpengaruh terhadap daya kecambah, potensi tumbuh maksimum, dan kecepatan tumbuh. Hal ini karena isolat bakteri yang digunakan tidak memiliki kemampuan untuk mempercepat perkecambahan (Long *et al.* 2008). Masing-masing bakteri memiliki kemampuan yang berbeda dalam menghasilkan senyawa yang mendukung pertumbuhan tanaman (Sartiyana 2020). Daya kecambah benih menunjukkan jumlah kecambah yang dihasilkan oleh benih pada kondisi lingkungan tertentu. Daya kecambah benih kayu kuku yang paling rendah ada pada perlakuan kontrol sebesar 30% dan yang tertinggi pada perlakuan SBP 19 sebesar 42%.

Potensi tumbuh maksimum (PTM) merupakan kemampuan benih untuk tumbuh atau berkecambah dalam kondisi yang optimum (Nasrul dan Fridayanti 2014). Hasil penelitian menunjukkan penggunaan ketiga jenis bakteri endofit tidak berpengaruh signifikan. Benih kayu kuku yang ditanam tidak dapat tumbuh secara keseluruhan dan menghasilkan nilai PTM sebesar 30-42%. Benih yang ditanam tidak tumbuh secara keseluruhan, tetapi benih yang tidak tumbuh masih dalam keadaan baik dan tidak mengalami kerusakan secara fisik. Hal ini dapat disebabkan oleh kurangnya waktu pengamatan dan benih kayu kuku tidak dapat tumbuh serentak. Hal ini dapat diakibatkan oleh faktor genetik setiap benih berbeda (Sadjad *et al.* 1999).

Kecepatan tumbuh benih dihitung berdasarkan total pertambahan kecambah normal setiap hari (Nasrul dan Fridayanti 2014). Kecepatan tumbuh digunakan untuk mengukur kekuatan tumbuh benih, karena benih yang cepat tumbuh lebih mampu menghadapi kondisi lapangan yang suboptimal (Lesilolo *et al.* 2013). Kecepatan tumbuh benih kayu kuku terendah ada pada perlakuan SBP 1 sebesar 1,04%/etmal dan kecepatan tumbuh terbesar ada pada perlakuan SBP 19 sebesar 1,58%/etmal. Hasil sidik ragam menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan terhadap peubah kecepatan tumbuh benih. Hal ini dapat disebabkan oleh kurangnya waktu pengamatan dan sifat dormansi benih kayu kuku yang memiliki kulit benih yang keras serta lapisan lilin yang menghalangi terjadinya imbibisi. Menurut Krisnawati dan Adie (2016), kulit benih menentukan kecepatan berkecambah suatu benih. Benih berkulit tipis akan lebih cepat menyerap air sehingga mempercepat perkecambahan benih, begitu pula sebaliknya. Benih

pada perlakuan kontrol banyak berkecambah pada minggu ke-2 dan menurun setelah minggu ke-4, sedangkan pada benih yang diberikan bakteri endofit sedikit berkecambah pada minggu ke-2 dan meningkat setelah minggu ke-4.

Aplikasi Bakteri Endofit dan Ekoenzim pada Bibit Kayu Kuku

Pertumbuhan tanaman merupakan peristiwa bertambahnya ukuran tanaman yang diukur dari besar tinggi dan diameter. Pertambahan ukuran tumbuhan merupakan hasil dari pertambahan jumlah dan ukuran sel (Hapsari *et al.* 2018). Penelitian ini menggunakan 6 peubah untuk mengamati pertumbuhan bibit kayu kuku yang diberikan bakteri endofit dan ekoenzim. Hasil sidik ragam menunjukkan tidak adanya perbedaan yang signifikan pada 6 peubah yang diamati terhadap bibit kayu kuku yang diinokulasi 3 jenis bakteri endofit dengan dan tanpa pemberian ekoenzim. Berdasarkan hasil tersebut, diduga pemberian ekoenzim belum dapat memenuhi kebutuhan hara bibit kayu kuku. Bakteri endofit membantu penyerapan hara tanaman sehingga dapat mengefisienkan penggunaan pupuk yang diberikan (Gusmaini *et al.* 2019).

Hasil penelitian menunjukkan pertumbuhan tinggi, diameter, dan jumlah daun bibit kayu kuku tidak dipengaruhi oleh bakteri endofit dan ekoenzim. Pertambahan tinggi bibit kayu selama 14 minggu pengamatan berkisar antara 9,8-10,5 cm. Pertambahan diameter bibit kayu kuku selama 14 minggu berkisar antara 1,9-2 mm.. Pertambahan jumlah daun sama pada semua perlakuan selama 14 minggu pengamatan yaitu sebanyak 22 helai. Perlakuan kontrol dengan penambahan ekoenzim meningkatkan jumlah daun bibit sehingga tren yang dihasilkan sama pada petak ekoenzim. Peran bakteri endofit dipengaruhi oleh kesesuaian tanaman inang tertentu terhadap bakteri endofit tertentu. Keberhasilan kolonisasi bakteri pada tanaman inang membutuhkan kompetensi endofit seperti flagella, gen-Nod, enzim pendegradasi dinding sel, dll. Tanaman sebagai inang yang menyediakan ruang bagi bakteri menjadi sumber nutrisi bagi bakteri dan asosiasi antara bakteri dan tanaman inang dapat bermanfaat bagi kesehatan dan produktivitas tanaman tersebut (Monalisa 2020).

Berat basah total dan berat kering total bibit kayu kuku dipengaruhi oleh aplikasi bakteri endofit dan ekoenzim. Ekoenzim apabila diaplikasikan secara bersamaan dengan bakteri SBP 1 akan menghasilkan efek yang negatif untuk bibit kayu kuku yang ditandai dengan adanya penurunan berat basah total dan berat kering total bibit kayu kuku. Hal ini menunjukkan adanya interaksi antagonis antara bakteri endofit SBP 1 dengan ekoenzim yang digunakan. Hal ini sesuai dengan penelitian Welfalini *et al.* (2023) yang menemukan bahwa ekoenzim dengan konsentrasi 30%, 70%, dan 100% berpotensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus* spp. Ekoenzim yang digunakan pada penelitian ini terbuat dari kulit

mangga dan pepaya dengan pH akhir 2,85; berwarna kuning kecoklatan dengan bau asam. Fermentasi ekoenzim dikatakan berhasil jika menghasilkan larutan berwarna kuning kecoklatan dengan bau asam khas buah-buahan serta memiliki pH di bawah 4 (Win 2011). Kulit pepaya mengandung senyawa flavonoid, saponin dan steroid. Senyawa flavonoid berperan sebagai antimikrob dan antivirus (Trisna dan Nizar 2018). Kulit mangga juga memiliki senyawa flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen (Noviyanty *et al.* 2021).

Indeks mutu bibit (IMB) ditujukan untuk mengetahui tingkat ketahanan suatu bibit untuk dipindahkan ke lapangan. Penambahan ekoenzim pada kontrol menghasilkan nilai IMB tertinggi sedangkan nilai IMB terendah ada pada inokulasi SBP 1 dengan penambahan ekoenzim. Inokulasi bakteri endofit SBP 1 dengan penambahan ekoenzim menurunkan performa bakteri sehingga mempengaruhi nilai IMB bibit. Sudomo dan Santosa (2011) menyatakan tanaman dengan nilai IMB >0,09 memiliki ketahanan cukup baik dan dapat dipindahkan ke lapangan. Semakin besar nilai IMB semakin tinggi pula mutu bibit tersebut. Hasil penelitian menunjukkan bahwa bibit kayu kuku yang diberi perlakuan dengan inokulasi bakteri endofit dan ekoenzim siap untuk dipindahkan ke lapangan.

Salah satu faktor penting dalam menentukan kualitas bibit sebelum ditanam di lapangan adalah dengan nilai nisbah pucuk akar (NPA). Nilai NPA mengacu pada klasifikasi Haase (2009) yang menyatakan nilai NPA ideal pada bibit yaitu 1-3. Nilai NPA pada bibit kayu kuku berkisar antara 2,66-5,04. Nilai NPA yang besar menunjukkan tajuk yang dihasilkan lebih besar dibandingkan dengan perkembangan akar (Neugebauer *et al.* 2020). NPA dapat menggambarkan kesuburan suatu media yang mempengaruhi kemampuan akar dalam menyerap air dan hara. NPA yang besar menunjukkan ketersediaan air dan hara yang optimal bagi tanaman, sehingga akar tidak perlu memanjang untuk mencari air dan hara (Wasis *et al.* 2015).

Bakteri endofit dapat memacu pertumbuhan dengan dua acara, yaitu: (1) secara tidak langsung dengan membantu penyerapan nutrisi dan membentuk resistensi tanaman terhadap hama dan penyakit, dan (2) secara langsung dengan memproduksi fitohormon seperti auksin atau sitokinin (Long *et al.* 2008). Penggunaan bakteri endofit dengan kode SBP 1, SBP 2 dan SBP 19 terbukti belum dapat meningkatkan pertumbuhan bibit kayu kuku pada fase vegetatif. Meskipun demikian, penggunaan bakteri endofit pada bibit kayu kuku menghasilkan daya hidup bibit 100%. Peran bakteri endofit dapat dipengaruhi oleh kesesuaian tanaman inang dengan bakteri endofit tertentu sehingga bakteri endofit dapat mengkolonisasi tanaman inang tanpa menyebabkan infeksi patogen (Long *et al.* 2008).

Secara umum, inokulasi bakteri endofit pada tanaman kayu kuku memberikan hasil positif pada perkecambahan benih dan pertumbuhan bibit kayu

kuku. Inokulasi bakteri endofit dengan kode SBP 19 dapat meningkatkan laju perkecambahan benih kayu kuku sehingga dapat digunakan untuk melakukan budidaya tanaman kayu kuku secara generatif. Inokulasi SBP19 dapat menyeimbangkan pertumbuhan pucuk dan akar bibit kayu kuku. Inokulasi bakteri endofit secara umum tidak berpengaruh signifikan terhadap pertumbuhan bibit kayu kuku, tetapi juga tidak menimbulkan pengaruh yang negatif bagi pertumbuhan bibit. Aplikasi ekoenzim pada perlakuan kontrol memberikan hasil yang positif terhadap berat basah, berat kering dan nilai IMB serta dapat menyeimbangkan pertumbuhan pucuk dan akar bibit kayu kuku. Aplikasi ekoenzim dapat memengaruhi efektivitas bakteri endofit, baik pengaruh positif maupun negatif, bergantung pada jenis bakteri yang dipakai. Aplikasi ekoenzim tidak dianjurkan pada aplikasi bakteri SBP 1 karena dapat menurunkan efektivitas bakteri tersebut pada pertumbuhan bibit kayu kuku.

SIMPULAN

Inokulasi bakteri endofit pada benih kayu kuku berpengaruh signifikan terhadap peubah laju perkecambahan benih. Inokulasi bakteri SBP19 menghasilkan laju perkecambahan tercepat selama 33,67 hari dan menghasilkan daya kecambah terbanyak dengan 42,67% benih berkecambah. Inokulasi bakteri endofit dan aplikasi ekoenzim pada bibit kayu kuku tidak berpengaruh signifikan terhadap peubah tinggi, diameter, jumlah daun, berat basah total, dan berat kering total. Inokulasi bakteri SBP 2 atau SBP 19 + ekoenzim memberikan pengaruh yang sama dengan kontrol pada semua peubah yang diamati. Ekoenzim dapat menurunkan efektivitas bakteri SBP 1, terlihat dari penurunan berat basah total dan berat kering total, dan peningkatan nilai NPA bibit kayu kuku. Nilai NPA bibit kayu kuku berkisar antara 2,66-5,04 dan nilai IMB berkisar antara 0,41-0,93, sehingga bibit siap untuk dipindahkan ke lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Alfaizin D, Suhartati, Kurniawan E. 2016. Benih dan perkecambahan kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW). *Info Teknis Eboni* 13(1):1-11. <https://doi.org/10.20886/buleboni.5070>.
- Asyi'ah S, Adelina E, Made U. 2019. Pengaruh suhu air panas dan lama perendaman gibberelin terhadap pematangan dormansi palem putri (*Veitchia Merrilli*). *J. Agrotekbis*. [diakses 2021 Jul 8] 7(6):712–72. <http://jurnal.faperta.untad.ac.id/index.php/agrotekbis/article/view/589>.
- Damayanti AI. 2018. Pengaruh kombinasi isolat bakteri endofit asal kebun kopi Kalibendo terhadap jumlah populasi nematoda *Pratylenchus coffea* dan pertumbuhan bibit

- tanaman kopi arabika (*Coffea arabica* L.) serta pemanfaatannya sebagai serial poster [skripsi]. Jember: Universitas Jember.
- Fathurrahman F, Wangiyana GAS. 2018. Pengaruh lama perendaman H₂SO₄ terhadap pematangan dormansi biji asam (*Tamarindus indica* L.). *Jurnal Silva Samalas* 1(1):61-69. <https://ejournal.undikma.ac.id/index.php/jss/article/view/3671/2514>.
- Gusmaini, Aziz SA, Munif A, Sopandie D, Bermawie N. 2013. Potensi bakteri endofit dalam upaya meningkatkan pertumbuhan, produksi, dan kandungan andrografolid pada tanaman sambiloto. *Jurnal Littri*. 19(4):167-177.
- Gusmaini, Kartikawati A. 2019. Potensi bakteri endofit asal tanaman lada sebagai pelarut fosfat dan pengikat nitrogen serta penghasil IAA. *Jurnal Littri*. 25(1):11-21. DOI: <http://dx.doi.org/10.21082/littri.v25n1.2019>.
- Gusmaini, Kartikawati A, Nurhayati H. 2019. Pengujian bakteri endofit terhadap efisiensi hara pada pertumbuhan tanaman lada di Lampung. *Jurnal Pertanian Tanaman Industri*. 25(2):100-106. <http://dx.doi.org/10.21082/jlitri.v25n2.2019.100-107>.
- Haase DL. 2009. Understanding Forest seedling quality: measurements and interpretation. *Tree Planter's Notes* 52(2):24-29.
- Hapsari AT, Darmanti S, Hastuti ED. 2018. Pertumbuhan batang, akar dan daun gulma ketumpangan (*Pilea microphylla* (L.) Liebm.). *Buletin Anatomi dan Fisiologi* 3(1):79-84. <https://doi.org/10.14710/baf.3.1.2018.79-84>.
- Harni R, Ibrahim MSD. 2011. Potensi bakteri endofit menginduksi ketahanan tanaman lada terhadap infeksi *Meloidogyne incognita*. *Jurnal Littri*. 17(3): 118-123. <http://dx.doi.org/10.21082/jlitri.v17n3.2011.118-123>.
- Hidayati U, Chaniago IA, Munif A, Siswanto, Santosa DA. 2014. Potensi kultur campuran bakteri endofit sebagai pemacu pertumbuhan bibit tanaman karet. *Jurnal Penelitian Karet* 32(2):129 – 138. <https://doi.org/10.22302/ppk.jpk.v32i2.159>.
- Krisnawati A, Adie MM. 2016. Ragam karakter morfologi kulit biji beberapa genotip plasma nutfah kedelai. *Buletin Plasma Nutfah* 14(1):14-18. <http://dx.doi.org/10.21082/blpn.v14n1.2008.p14-18>.
- Lesilolo MK, Riry J, Matatula EA. 2013. Pengujian viabilitas dan vigor benih beberapa jenis tanaman yang beredar di pasaran Kota Ambon. *J Agrologi*. 2(1):1-9. <http://dx.doi.org/10.30598/a.v2i1.272>.
- Long HH, Schmidt DD, Baldwin IT. 2008. Native bacterial endophytes promote host growth in a species-specific manner; phytohormone manipulations do not result in common growth responses. *Plos Digital Health*. 3(7):1-10. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002702>.
- Marjenah, Matius P, Hura A. 2021. Aplikasi air kelapa pada perkecambahan benih kalangkala (*listea garciae* Vidal) dengan perlakuan perendaman dan pemeraman. *Jurnal AGRIFOR*. 20(3):139-152. <https://doi.org/10.31293/agrifor.v20i1.5091>.
- Marthen, Kaya E, Rehatta H. 2013. Pengaruh perlakuan pencelupan dan perendaman terhadap perkecambahan benih sengon (*Paraserianthes falcataria* L.). *J Ilmu Budidaya Tanaman* 2(1):1-85. <http://dx.doi.org/10.30598/a.v2i1.273>.
- Miljakovi'c D, Marinkovi'c J, Tamindži'c G, Đorđević V, Tintor, B.; Milošević D, Ignjatov M, Nikoli'c Z. 2022. Bio-priming of soybean with *Bradyrhizobium japonicum* and *Bacillus megaterium*: strategy to improve seed germination and the initial seedling growth. *Plants* 11:1927-1942. <https://doi.org/10.3390/plants11151927>.
- Monalisa A. 2020. *Bakteri Endofit: Pemacu Pertumbuhan Tanaman dan Penghasil Enzim*. Bandung: CV. Patra Media Grafindo.
- Nasrul N, Fridayanti N. 2014. Pengaruh lama perendaman dan suhu air terhadap pemecahan dormansi benih sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen). *Jurnal Agrium* 11(2):129-134. <https://doi.org/10.29103/agrium.v11i2.618>.
- Neugebauer K, El-Serehy HA, George TS, McNicol JW, Moraes MF, Sorreano MCM, White PJ. 2020. The influence of phylogeny and ecology on root, shoot and plant ionomes of 14 native Brazilian species. *Physiologia Plantarum* 168(4):790-802. <https://doi.org/10.1111/ppl.13018>.
- Noviyanty Y, Hepiyansori, Insani TD. 2021. Uji aktivitas senyawa flavonoid dari ekstrak etanol kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Oceana Biomedicina* 4(1):38-52. <http://dx.doi.org/10.30649/obj.v4i1.67>.
- Neupane K, Khadka R. 2019. Production of garbage enzyme from different fruit and vegetable waste and evaluation of its enzymatic and antimicrobial efficacy. *TUJM*. 6(01):113-118. DOI:<https://doi.org/10.3126/tujm.v6i0.26594>.
- Nursyamsi, Toaha AQ. 2017. Tahapan sterilisasi dan skarifikasi benih kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW) untuk mempercepat perkecambahan secara *in vitro*. *Info Teknis EBONI* 14(1):11-21. <https://doi.org/10.20886/buleboni.5091>.
- Noviyanty Y, Hepiyansori, Insani TD. 2021. Uji aktivitas senyawa flavonoid dari ekstrak etanol kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Oceana Biomedicina*. 4(1):38-52. <http://dx.doi.org/10.30649/obj.v4i1.67>.
- Oktaviana Z, Ashari S, Purnamaningsih SL. 2016. Pengaruh perbedaan umur masak benih terhadap

- hasil panen tiga varietas local mentimun (*Cucumis sativus* L.). *Jurnal Produksi Tanaman* 4(3):218-223.
<http://protan.studentjournal.ub.ac.id/index.php/protan/article/view/284>.
- Puspita F, Saputra SI, Merini J. 2018. Uji beberapa konsentrasi bakteri *Bacillus* sp. endofit untuk meningkatkan pertumbuhan bibit kakao (*Theobroma cacao* L.). *J Agron Indonesia*. 46(3):322-327. DOI: <https://dx.doi.org/10.24831/jai.v46i3.16342>.
- Sadjadi B. 2006. *Fisiologi Lingkungan Tanaman*. Yogyakarta: UGM Press
- Sadjad S, Muniarti E, Ilyas S. 1999. *Parameter Pengujian Vigor Benih dari Komparatif ke Simulatif*. Jakarta: PT Grasindo
- Sandi ALI, Indriyanto, Duryat. 2014. Ukuran benih dan skarifikasi dengan air panas terhadap perkecambahan benih pohon kuku (*Pericopsis mooniana*). *J Sylva Indonesia*. 2(3):83-92. <http://dx.doi.org/10.23960/jsl3283-92>.
- Sartiyana N. 2020. Studi komparatif bakteri endofit tunggal dan konsorsium dalam mengendalikan (*Meloidogyne* spp.) pada tanaman tomat [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Sodakh TD, Sumampow DMF, Polii MGM. 2017. Perbaikan sifat fisik dan kimia tailing melalui pemberian amelioran berbasis bahan organik. *J. Eugenia*.23(3):130-137. <https://doi.org/10.35791/eug.23.3.2017.18965>.
- Sudomo A, Santosa HB. 2011. Pengaruh media organik dan tanah mineral terhadap pertumbuhan dan indeks mutu bibit mindi. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam* 8(3):263-271. <https://doi.org/10.20886/jphka.2011.8.3.263-271>.
- Suhartati, Nursyamsi, Alfaizin D. 2015. Mengenal morfologi, tipe buah dan biji pada pohon kayu kuku (*Pericopsis mooniana* THW). *Info Teknis EBONI* 12(2):87-96. <https://doi.org/10.20886/buleboni.5060>.
- Trisna C, Nizar M. 2018. Aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah pepaya muda (*Carica papaya* L.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara in vitro. *Jurnal Medikes* 5(2):96-103. <https://doi.org/10.36743/medikes.v5i2.51>.
- Wasis B, Mulyana D, Winata B. 2015. Pertumbuhan se mai jabon (*Anthocephalus cadamba*) pada media bekas tambang pasir dengan penambahan sub soil dan arang tempurung kelapa. *Jurnal Silviculture Tropika* 6(2):93-100. <http://docplayer.info/49806897-Pertumbuhan-semai-jabon-anthocephalus-cadamba-pada-media-bekas-tambang-pasir-dengan-penambahan-sub-soil-dan-arang-tempurung-kelapa.html>.
- Welfalini ST, Suartha NI, Sudipa PH. 2023. Uji daya hambat eko-enzim terhadap perumbuhan bakteri *Streptococcus* spp. yang diisolasi dari jaringan ektodermal kulit anjing. *Buletin Veteriner Udayana* 15(2):169-176. DOI: 10.24843/bulvet.2023.v15.i02.p02
- Win YC. 2011. *Eco-enzyme Activating the Earth's Self Healing Power*. Malaysia: Summit Print SDN.
- Yuliandewi NW, Sukerta IM, Wiswasta IGNA. 2018. Utilization of organic garbage as "eco garbage enzyme" for lettuce plant growth (*Lactuca sativa* L.). *International Journal of Science and Research* 7(2):1521-1525. DOI: 10.21275/ART2018367.