

Pengaruh Molibdenum terhadap Populasi Konsorsium *Bacillus* dan *Indole 3-Acetic Acid*

Aliya Zahrah Adawiah^{1*}, Sandra Amalia Riyadi¹, Reginawanti Hindersah², Pujawati Suryatmana²

¹Program Studi Kimia, Sekolah Tinggi Analisis Bakti Asih, Jawa Barat

²Program studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran, Jawa Barat

*email: aliyazahrah@yahoo.com

ABSTRAK

Molibdenum (Mo) merupakan salah satu unsur hara yang berkontribusi dalam proses penambatan N₂ dan terkandung pada media pertumbuhan bakteri penambat N₂. *Bacillus* merupakan bakteri yang banyak digunakan sebagai pupuk hayati karena mampu menambat N₂ pada atmosfer dan menghasilkan fitohormon berupa *Indole 3-Acetic Acid* (IAA) yang bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh penambahan Mo pada konsorsium *Bacillus* dalam media pertumbuhan 2% molase + 10 gram pepton + 3 gram *beef extract* terhadap populasi sel vegetatif, populasi spora, dan produksi hormon IAA setelah diinkubasi selama 3, 6 dan 9 hari. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran. Metode yang digunakan untuk menghitung total populasi sel vegetatif yaitu metode plat pengenceran berseri dengan pemanasan 80°C selama 30 menit untuk total populasi spora, sedangkan produksi hormon IAA diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pereaksi Salkowski pada panjang gelombang 530 nm. Data diuji dengan t-student pada $p \leq 0.05$. Hasil penelitian dengan menggunakan uji t-Student menunjukkan Mo meningkatkan populasi sel vegetatif pada hari ke 3 tetapi tidak mempengaruhi populasi sel vegetatif pada hari ke 6 dan ke 9. Populasi spora konsorsium *Bacillus* tidak ditentukan oleh Mo. Produksi hormon IAA pada kultur dengan Mo tidak berbeda dengan pada kultur tanpa Mo.

Kata Kunci: molibdenum, konsorsium *Bacillus*, hormon IAA.

Effect of Molybdenum on Population of *Bacillus* Consortium and Production of *Indole 3-Acetic Acid*

ABSTRACT

Molybdenum (Mo) is one of nutrients that contributes on process of fixing N₂ and it's contained in growth medium of N₂-fixing bacteria. *Bacillus* is bacterium that widely used as biofertilizer because it can fix N₂ in the atmosphere and produce phytohormones in form of *Indole 3-Acetic Acid* (IAA) which are beneficial for plant growth. The purpose of this research was to determine the effect of Mo addition on *Bacillus* consortium in a growth medium of 2% molasses + 10grams peptone + 3grams beef extract against vegetative cell population, spore population and IAA hormone production after incubated for 3, 6 and 9 days. This research was conducted at Soil Biology Laboratory, Faculty of Agriculture, Padjadjaran University. The method to calculate total population of vegetative cells is the serial dilution plate method with 80°C heating for 30 minutes for total spore population, while the production of IAA hormone was measured using UV-Vis spectrophotometer with Salkowski reagent at a wavelength of 530 nm. All data subjected to Student-t test with $p \leq 0.05$. The results of the study by using the Student-t test showed that Mo increased the vegetative cell population on day 3 but did not affect the vegetative cell population on day 6 and 9. The spore population of the *Bacillus* consortium was not determined by Mo. The production of IAA hormone in cultures with Mo was not different from that in cultures without Mo..

Keywords : molybdenum, consortium *Bacillus*, IAA Hormone

PENDAHULUAN

Bacillus banyak dimanfaatkan dalam

bidang industri dan pertanian karena memiliki kemampuan tinggi dalam memproduksi dan mengeluarkan enzim ekstraseluler. Sifat

Bacillus yang tahan terhadap senyawa antiseptik, memiliki kisaran suhu pertumbuhan yang luas, pembentuk spora, beberapa diantaranya mampu melakukan biodegradasi terhadap banyak senyawa xenobiotik dan faktor tumbuhnya tidak mahal menjadikan *Bacillus* sangat berpotensi untuk dikembangkan dalam industri bioteknologi [1].

Seiring meningkatnya perkembangan teknologi khususnya di bidang pertanian, inokulan bakteri dapat diproduksi lebih dari satu kelompok mikroba fungsional atau konsorsium [2]. Konsorsium bakteri pada pupuk hayati dapat memberikan berbagai manfaat secara bersamaan sehingga akan lebih efektif dalam memberi keuntungan bagi tanah dan tanaman [3]. Konsorsium bakteri meningkatkan parameter pertumbuhan apabila dibandingkan dengan perlakuan tunggal [4].

Bacillus merupakan salah satu bakteri tanah yang dapat dibudayakan di sebagian besar tanah dan terkenal karena memiliki kemampuan untuk memberikan efek menguntungkan bagi tanaman seperti pengendali serangan hama dan patogen, menghasilkan beberapa metabolit sekunder seperti antibiotik, siderofor, dan bakteriosin [5]. Oleh karena itu *Bacillus* menjadi kandidat yang cocok untuk diaplikasikan sebagai pupuk hayati atau agen biokontrol [6]. Peran *Bacillus* dalam pertanian adalah meningkatkan ketersediaan unsur hara nitrogen dengan memfiksasi N_2 di atmosfer [7]. Selama proses fiksasi nitrogen bakteri melibatkan unsur hara Molibdenum (Mo) sebagai bagian komponen enzim nitrogenase yang mengkatalis proses fiksasi, penambahan Mo secara tidak langsung memberikan pengaruh terhadap pertumbuhan *Bacillus* [8].

Selain itu *Bacillus* mampu menghasilkan enzim ekstraseluler dan dapat mensintesis fitohormon auksin berupa *Indole 3-Acetic Acid* (IAA) yang berfungsi sebagai peningkat pertumbuhan akar dan tunas tanaman, oleh karena itu *Bacillus* sering kali dipilih dan dimanfaatkan sebagai pupuk hayati [9].

Konsorsium 10 spesies *Bacillus* pada pupuk hayati yang diujinya dapat mensekresikan IAA sebanyak $3,0065 \mu\text{gL}^{-1}$ [10]. Hasil penelitian pada beberapa koleksi *Bacillus* sp. menunjukkan konsentrasi IAA sebesar $8 - 79 \mu\text{gL}^{-1}$ [11]. Selanjutnya penelitian penggunaan inokulum yang dikombinasikan dengan pupuk Mo pada tanaman kacang tanah menunjukkan peningkatan nodulasi dan aktivitas enzim nitrogenase yang besar [12].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan Mo pada konsorsium *Bacillus* terhadap total populasi sel vegetatif dan spora, kemudian produksi hormon IAA.

BAHAN DAN METODE

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Biologi Tanah Departemen Ilmu Tanah dan Sumberdaya Lahan Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran dimulai pada Maret 2022 hingga Juni 2022.

Konsorsium *Bacillus* yang digunakan yaitu *Bacillus safensis*, *Bacillus altitudinis*, *Bacillus subtilis* dan *Bacillus* sp. Keempat spesies *Bacillus* diisolasi berdasarkan Kerjasama antara PT. Pupuk Indonesia dan Laboratorium Biologi Tanah Fakultas Pertanian Unpad. Media pertumbuhan yang digunakan berupa media cair dengan kandungan molase 2%, pepton 10 g, *beef extract* 3 g, dengan dan tanpa penambahan $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,0025 g per liter. Media disterilkan menggunakan otoklaf pada temperatur 121°C selama 20 menit, dan dibiarkan semalam sebelum digunakan.

Kultur konsorsium *Bacillus* diproduksi pada fermentor ukuran 2 L berskala laboratorium dengan volume media sebanyak 1,5 L. Sebanyak 1% biakan murni campuran keempat spesies *Bacillus* diinokulasikan pada media, dan diaduk dengan kecepatan 130 RPM selama 9 hari pada suhu ruang.

Penetapan Populasi Sel Vegetatif dan Spora Bacillus

Sampel inokulan diambil pada hari ke-3, hari ke-6 dan hari ke-9 untuk penghitungann populasi metode plat pengenceran berseri pada pengenceran 10^{-7} . Untuk penetapan populasi spora dengan metode yang sama, kultur diencerkan hingga 10^{-3} kemudian kultur dipanaskan pada suhu 80°C selama 30 menit sebelum dituangkan ke dalam media plat agar ^[9]. Media yang digunakan untuk menghitung total populasi sel vegetatif dan spora adalah *Trypticase Soy Agar* (TSA) dengan waktu inkubasi 24 jam pada suhu 35°C .

Data total populasi sel vegetatif dan spora yang sudah didapat diubah menjadi bentuk log dan perbedaan nilai parameter ditetapkan oleh uji t dengan taraf kepercayaan 95% menggunakan aplikasi SPSS.

Penetapan Kadar IAA

Sabanyak 1 mL sampel pada hari ke-3, hari ke-6 dan hari ke-9 disentrifuge dengan kecepatan 8000 rpm selama 10 menit, kemudian supernatan dipindahkan ke tabung reaksi melalui *syringe filter* dan ditambahkan 2 mL pereaksi Salkowski (50mL HClO_4 + 1mL FeCl_3 0,5M) lalu diinkubasi di ruang gelap selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 530 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Populasi Sel Vegetatif

Pengaruh penambahan Mo terhadap total populasi sel vegetatif konsorsium Bacillus hanya terlihat pada waktu inkubasi hari ke-3, sedangkan pada waktu inkubasi hari ke-6 dan hari ke-9 tidak menunjukkan adanya pengaruh. Data rata-rata total populasi sel vegetatif dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rata-rata populasi sel vegetatif konsorsium Bacillus dengan dan tanpa penambahan Mo

Inkubasi hari ke-	Total populasi sel vegetatif (Log_{10} CFU mL^{-1})	
	Tanpa Mo	Dengan Mo
3	9,71	10,05
6	11,18	11,19
9	12,04	11,90

Keterangan: A= konsorsium Bacillus tanpa Mo; B= konsorsium Bacillus dengan Mo

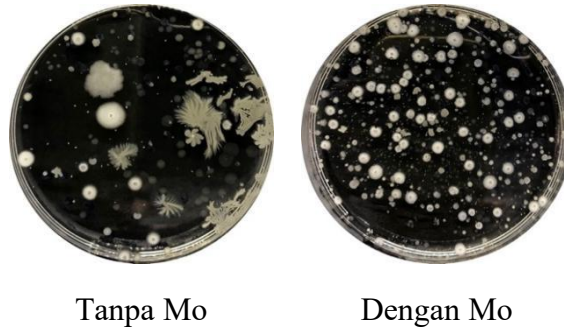
Penambahan Mo meningkatkan populasi sel vegetatif konsorsium Bacillus pada hari ke-3 dibandingkan dengan tanpa Mo dengan nilai sig. 0,015 pada uji t. Peningkatan populasi Bacillus di media dengan Mo dengan nyata mencapai satu log. Hal ini membuktikan bahwa Mo dapat membantu pertumbuhan konsorsium Bacillus sebagai bakteri penambat N_2 karena Mo terlibat dalam proses penambatan N_2 sebagai komponen enzim nitrogenase ^[8]. Hasil penelitian lain membuktikan adanya peningkatan jumlah bakteri penambat N_2 pada

tanah setelah diaplikasikan Mo ^[13]. Pengaruh Mo pada pertumbuhan Bacillus telah diperlihatkan oleh peneliti lainnua yang berhasil mengisolasi bakteri penambat N_2 *Bacillus aerius* 24K menggunakan media selektif yang mengandung Mo ^[14].

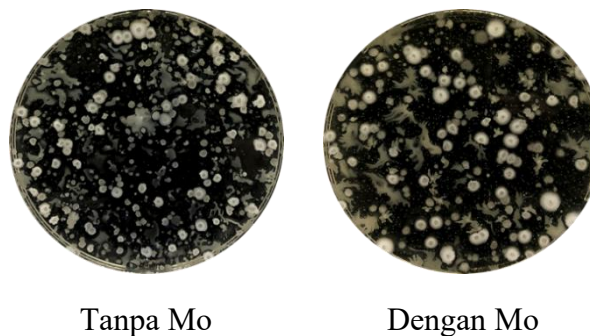
Berdasarkan uji-t Student, populasi sel vegetatif di dalam kultur dengan dan tanpa Mo tidak berbeda pada hari ke-6 maupun ke-9 dengan nilai signifikansi berturut-turut 0,903 dan 0,340. Artinya, Bacillus tidak memberikan respons positif terhadap penambahan Mo sehingga tidak terdeteksi

peningkatan populasi di dalam kedua jenis media. Ketiadaan efek Mo dapat disebabkan karena bakteri telah melewati fase stasioner dimana konsentrasi nutrisi berkurang ^[15] .

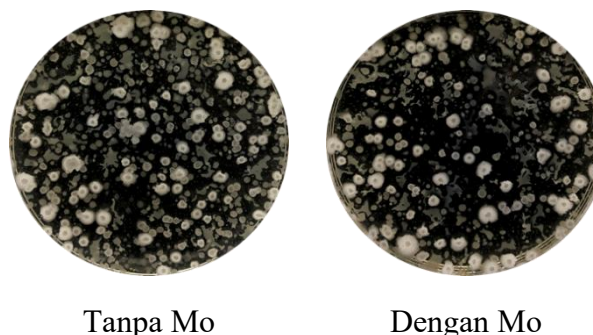
Pada penelitian ini, tidak ada perubahan bentuk koloni sel vegetatif konsorsium Bacillus umur 3 - 9 hari dengan dan tanpa penambahan Mo (Gambar 1, 2 dan 3).



Gambar 1. Koloni sel vegetatif konsorsium Bacillus pada hari ke-3 di dalam kultur cair



Gambar 2. Koloni sel vegetatif konsorsium Bacillus pada hari ke-6 di dalam kultur cair



Gambar 3. Koloni sel vegetatif konsorsium Bacillus pada hari ke-9 di dalam kultur cair

Populasi Spora

Berdasarkan Uji t-Student, penambahan Mo tidak mempengaruhi populasi spora konsorsium Bacillus baik pada waktu inkubasi hari ke-3, hari ke-6 dan hari ke-9.

Walaupun waktu inkubasi yang optimal untuk pertumbuhan Bacillus sudah tercapai, yaitu lebih dari 3 hari ^[16] namun Mo tidak mampu membantu proses pembentukan spora Bacillus.

Pada hari ke-3, peningkatan populasi sel vegetatif tidak diikuti dengan peningkatan spora yang menandakan bahwa komposisi media sesuai syarat nutrisi Bacillus. Secara

umum, proses sporulasi Bacillus terjadi pada cekaman abiotik seperti suhu tinggi yang tidak dilakukan pada penelitian ini.

Tabel 2. Rata-rata total populasi spora konsorsium Bacillus dengan dan tanpa penambahan Mo

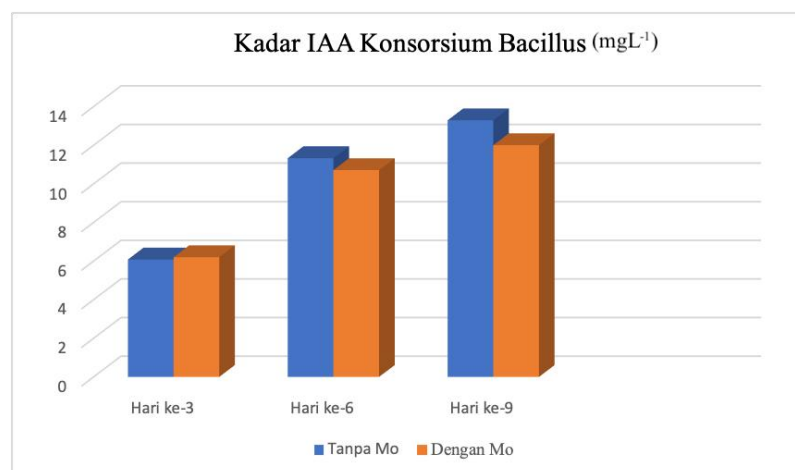
Inkubasi hari ke-	Total populasi spora pengenceran (Log_{10} CFU mL^{-1})	
	A	B
3	3,95	3,70
6	4,67	4,70
9	4,84	4,86

(A= konsorsium Bacillus tanpa Mo; B= konsorsium Bacillus dengan Mo)

Kadar IAA di dalam Media

Konsentrasi IAA di dalam kultur cair konsorsium Bacillus terdapat pada Gambar 4. Uji t-student pada penelitian ini menunjukkan tidak ada perbedaan konsentrasi IAA pada konsorsium Bacillus dengan dan tanpa penambahan Mo. Namun penambahan Mo

berpotensi menurunkan konsentrasi IAA di kultur bakteri pada hari ke 6 dan ke 9. Pembentukan IAA memerlukan precursor triptofan, suatu asam amino. Di hari ke 6 dan 9 Bacillus mencapai fase stasioner dimana kadar N dapat menurun dan menghambat pembentukan triptofan dan selanjutnya IAA.



Gambar 4. Grafik perbandingan kadar IAA dengan dan tanpa penambahan Mo

Dalam tahap akhir lintasan sintesis IAA pada bakteri yang berasosiasi dengan tanaman, indol asetonitril dikonversi menjadi indol asetamina yang selanjutnya menjadi IAA tanpa melibatkan Mo^[17]. Lintasan proses sintesis IAA memastikan bahwa Mo tidak berperan dalam produksi fitohormon IAA yang berperan penting sebagai biostimulant

pada penggunaan Bacillus sebagai rizobakteri pemicu pertumbuhan tanaman.

KESIMPULAN

Penambahan Mo pada konsorsium Bacillus meningkatkan populasi sel vegetatif dengan nyata pada hari ke-3 inkubasi pada

suhu kamar. Populasi sel vegetatif di dalam kultur cair konsorsium *Bacillus* tanpa dan dengan penambahan Mo adalah masing-masing 9,71 dan 10,05 Log₁₀ CFU mL⁻¹. Penambahan Mo tidak mempengaruhi populasi *Bacillus* pada hari ke 6 dan 9. Penambahan Mo juga tidak berpengaruh terhadap populasi spora pada hari ke 3, 6 maupun 9 hari. Penambahan Mo pada kultur cair konsorsium *Bacillus* tidak berpengaruh terhadap produksi fitohormon IAA.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada PT Pupuk Indonesia yang telah memberi dukungan finansial terhadap penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] I. Melati and M. T. D. Sunarno, "Isolasi, Seleksi, dan Identifikasi Bakteri Selulolitik dari Rumput Laut *Turbinaria* sp. dan *Sargassum* sp. Sebagai Kandidat Pendegradasi Serat Kasar Pakan Ikan," *Jurnal Riset Akuakultur*, vol. 10, no. 1, pp. 51–60, 2015, [Online]. Available: www.ncbi.nlm.nih.gov.
- [2] D. Herdiyantoro and A. Setiawan, "Upaya Peningkatan Kualitas Tanah Melalui Sosialisasi Pupuk Hayati, Pupuk Organik, dan Olah Tanah Konservasi di Desa Sukamanah dan Desa Nanggerang Kecamatan Cigalontang Kabupaten Tasikmalaya," 2015.
- [3] Z. Resti, E. Sulyanti, and Reflin, "Konsorsium Bakteri Endofit Sebagai Pengendali Hayati *Ralstonia solanacearum* dan Pemacu Pertumbuhan Tanaman Cabai," *Pros Sem Nas Masy Biodiv Indon*, vol. 4, no. 2, pp. 208–214, 2018.
- [4] O. S. Olanrewaju and O. O. Babalola, "Bacterial consortium for improved maize (*Zea mays* L.) production," *Microorganisms*, vol. 7, no. 11, Nov. 2019, doi: 10.3390/microorganisms7110519.
- [5] E. Mugiastuti, A. Manan, R. F. Rahayuniati, and L. Soesanto, "Aplikasi *Bacillus* sp. untuk mengendalikan penyakit layu fusarium pada tanaman tomat," *Jurnal Agro*, vol. 6, no. 2, pp. 144–152, Dec. 2019, doi: 10.15575/5397.
- [6] A. K. Saxena, M. Kumar, H. Chakdar, N. Anuroopa, and D. J. Bagyaraj, "Bacillus species in soil as a natural resource for plant health and nutrition," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 128, no. 6. Blackwell Publishing Ltd, pp. 1583–1594, Jun. 01, 2020. doi: 10.1111/jam.14506.
- [7] F. Puspita, M. Ali, and R. Pratama, "Isolasi dan Karakterisasi Morfologi dan Fisiologi Bakteri *Bacillus* sp. Endofitik dari Tanaman Kelapa Sawit (*Elaeis guineensis* Jacq.) Isolation and Characterization of Morphology and Physiology of Endophytic *Bacillus* sp. from Oil Palm Plants (*Elaeis guineensis* Jacq.)," 2017.
- [8] B. Tripama, D. Pebrian, and D. Pangesti, "Aplikasi Pemupukan Nitrogen dan Molybdenum Terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Buncis Blue Lake (*Phaseolus Vulgaris*) di Tanah Entisol [Nitrogen And Molybdenum Application On The Growth And Production Blue Lake Beans (*Phaseolus Vulgaris*) In Entisol Soil]," *Agritrop Jurnal - Jurnal Pertanian*, pp. 12–17, 2016.
- [9] R. Hindersah, M. R. Setiawati, B. N. Fitriatin, P. Suryatmana, and P. Asmiran, "Chemical characteristics of organic-based liquid inoculant of *Bacillus* spp.," in *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Institute of Physics Publishing, Dec. 2019. doi: 10.1088/1755-1315/393/1/012005.

- [10] M. Husna, S. Sugiyanta, and E. Pratiwi, "Kemampuan Konsorsium *Bacillus* pada Pupuk Hayati dalam Memfiksasi N₂, Melarutkan Fosfat dan Mensintesis Fitohormon Indole 3-Acetic-Acid," *Jurnal Tanah dan Iklim*, vol. 43, no. 2, p. 117, Jun. 2020, doi: 10.21082/jti.v43n2.2019.117-125.
- [11] Y. Saputri, L. Advinda, M. Chatri, and D. Handayani, "Potential *Bacillus* sp. in Producing Indole Acetic Acid (IAA) and Its Effect on Sprouts Root Length of Red Chili Seeds (*Capsicum annuum* L.) Potensi *Bacillus* sp. dalam Menghasilkan Indole Acetic Acid (IAA) serta Pengaruhnya terhadap Panjang Akar Kecambah Benih Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.)," 2020.
- [12] C. A. C. Crusciol *et al.*, "Rhizobial inoculation and molybdenum fertilization in peanut crops grown in a no tillage system after 20 years of pasture," *Rev Bras Cienc Solo*, vol. 43, 2019, doi: 10.1590/18069657rbc20170399.
- [13] J. Ma *et al.*, "Impacts of Mo application on biological nitrogen fixation and diazotrophic communities in a flooded rice-soil system," *Science of the Total Environment*, vol. 649, pp. 686–694, Feb. 2019, doi: 10.1016/j.scitotenv.2018.08.318.
- [14] P. Biofertilizer, A. dan, I. Nyoman, P. Aryantha, P. Pertanian, and N. Kupang, "Asrul & I Nyoman Pugeg Aryantha, 2021. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Penambat Nitrogen Untuk Pembuatan Biofertilizer," *Journal Viabel Pertanian*, vol. 15, no. 1, pp. 16–23, 2021, [Online]. Available: <http://ejournal.unisbablitar.ac.id/index.php/viabel>
- [15] M. Astriani and H. Murtiyaningsih, "Pengukuran *Indole-3-Acetic Acid* (IAA) pada *Bacillus* sp dengan Penambahan L-Tryptopan," *BIOEDUSCIENCE*, vol. 2, no. 2, p. 116, Dec. 2018, doi: 10.29405/j.bes/22116-1212233.
- [16] Y. Jiwintarum, M. W. Diarti, and B. L. Zaeniati, "Variasi Suhu Inkubasi Mempengaruhi Jumlah Sel Vegetatif dan Spora *Bacillus Sphaericus* Incubation Temperature Variation Affecting the Number of Vegetative Cells and Spora *Bacillus Sphaericus*," 2021, doi: 10.33860/jik.v15i1.415.
- [17] D. R. Duca and B. R. Glick, "Indole-3-acetic acid biosynthesis and its regulation in plant-associated bacteria", doi: 10.1007/s00253-020-10869-5/Published.