

**APLIKASI RHIZOBAKTERI PENGHASIL FITOHORMON UNTUK
MENINGKATKAN PERTUMBUHAN BIBIT *Aquilaria* sp. DI PERSEMAIAN
(Application of Phytohormone-Producing Rhizobacteria to Improve the Growth of
Aquilaria sp. Seedlings in the Nursery)***

Oleh/By:

Irnayuli R. Sitepu¹, Aryanto¹, Yasuyuki Hashidoko², dan/and Maman Turjaman¹

¹Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan dan Konservasi Alam

Jl. Gunung Batu No. 5 Po Box 165; Telp. 0251-8633234, 7520067; Fax 0251-8638111 Bogor

e-mail: irnars@hotmail.com, irnayuli@forda.mof.org.; e-mail: turjaman@yahoo.com.sg

²Lab. of Ecological Chemistry, Division of Applied Bioscience, Graduate School of Agriculture,
Hokkaido University, Kita-9, Nishi-9, Kita-Ku, Sapporo 060-8589, Japan

*Diterima : 6 Oktober 2009; Disetujui : 10 Mei 2010

ABSTRACT

Gaharu or aloewood or agarwood is resinous wood found mainly in the genus of Aquilaria. Gaharu is formed through a unique pathological process initiated with infection of fungi on the wood tissue. Gaharu has many uses i.e. incense in religious ceremony, perfume additive, medicine, and cultural activities. In response to over-exploitation of gaharu-producing trees that has threatened their existence, genera of Aquilaria and Gyrinops have been enlisted in Appendix II, CITES since October 2004. It is therefore crucial to sustain the existence of gaharu-producing species and to accelerate regeneration of gaharu-producing trees for commercial use. This study was aimed at investigating the effect of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in accelerating the growth of gaharu-producing seedlings in the nursery. The PGPR have been previously tested in-vitro for their phytohormone production from which nine isolates were selected for this study. In addition, one mycorrhization helper bacteria, Chromobacterium sp. CK8, was also included. Inoculation accelerated height growth of seedlings up to five months after inoculation. Among the 10 isolates, Burkholderia sp. CK28 and Chromobacterium sp. CK8 gave consistent effect on height growth acceleration. Percentage of height increase over non-inoculated control seedlings ranges from 12.2 to 38.7%, five months after inoculation. No significant effect was observed for the following months and after seedlings were transplanted in the field. Height was the most affected parameter which made it reliable for observation of inoculation effect. Further study should involve dual inoculation of the MHB, Chromobacterium sp. CK8, and mycorrhizal fungi to improve effect of inoculation on growth.

Keywords: Burkholderia sp. CK28, inoculation, plant growth promoting rhizobacteria, height

ABSTRAK

Gaharu adalah resin kayu yang umumnya ditemukan pada genus *Aquilaria*. Gaharu terbentuk melalui proses patologis yang unik diawali dengan infeksi jenis fungi tertentu pada jaringan tanaman. Gaharu memiliki banyak manfaat, yaitu sebagai dupa untuk kegiatan keagamaan, senyawa fiksatif minyak wangi, obat, dan kegiatan budaya. Gaharu semakin sulit ditemukan di habitat alaminya akibat eksploitasi yang berlebihan dan tidak bijaksana. Saat ini, genus *Aquilaria* dan *Gyrinops* telah tercantum dalam Appendix II CITES sejak Oktober 2004 sebagai upaya perlindungan gaharu dari ancaman kepunahan, oleh sebab itu upaya pelestarian gaharu perlu dilakukan selain upaya peningkatan produksi gaharu yang lestari dengan teknologi induksi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau *plant growth promoting rhizobacteri* dalam memacu pertumbuhan bibit penghasil gaharu di persemaian. Rhizobakteri yang digunakan dalam penelitian ini telah diuji secara *in-vitro* dalam kemampuannya untuk memproduksi fitohormon. Pada uji pendahuluan ini, sembilan rhizobakteri penghasil fitohormon dan satu tambahan bakteri MHB (*mycorrhization helper bacteria*) digunakan untuk menginokulasi bibit. Inokulasi meningkatkan pertumbuhan bibit sampai lima bulan setelah inokulasi. Di antara 10 isolat, *Burkholderia* sp. CK28 dan *Chromobacterium* sp. CK8 memberikan pengaruh yang paling konsisten pada bibit. Persentase kenaikan tinggi bibit dibanding dengan bibit yang tidak diinokulasi berkisar antara 12,2 sampai 38,7%, lima bulan setelah inokulasi. Inokulasi tidak memberikan pengaruh setelah lima bulan inokulasi maupun setelah bibit di pindah ke lapangan. Penelitian ini mengindikasikan bahwa tinggi merupakan parameter pertumbuhan yang paling terpercaya dalam mengamati efek inokulasi bakteri. Penelitian selanjutnya dapat menguji coba inokulasi ganda MHB, *Chromobacterium* sp. CK8, dengan fungi mikoriza untuk meningkatkan efisiensi dalam meningkatkan pertumbuhan.

Kata kunci: *Burkholderia* sp. CK28, inokulasi, bakteri pemacu pertumbuhan tanaman, tinggi

I. PENDAHULUAN

Gaharu (dalam Bahasa Inggris dikenal dengan *agarwood* atau *eaglewood*) adalah kayu resin yang bernilai komersial tinggi, karena digunakan sebagai dupa, bahan aditif minyak wangi dan minyak esensial untuk kegiatan keagamaan, budaya bahkan kegiatan sehari-hari. Di alam, perburuan gaharu dilakukan secara agresif dan tidak bijaksana. Pohon penghasil gaharu yang ditemukan dengan ciri-ciri adanya lubang kecil yang disebut lubang semut, ditebang dan dipanen gaharunya. Cara perburuan ini mengancam kelestarian gaharu di habitat alaminya, sehingga untuk mencegah punahnya pohon penghasil gaharu, sejak Oktober 2004, *Aquilaria* dan *Gyrinops*, dua genus pohon penghasil gaharu terpenting yang termasuk ke dalam famili Thymelaeaceae (ordo Myrtales dan kelas Magnoliopsida) telah masuk ke dalam daftar CITES (*the Convention on the International Trade in Endangered Species of Wild Flora and Fauna*), Appendix II. TRAFFIC-CITES-CoP13 Prop.49 (2004) mencatat ada 24 spesies yang termasuk genus *Aquilaria* dan tujuh spesies termasuk ke dalam genus *Gyrinops*. Kedua genus ini ditemukan tumbuh alami di paling tidak 12 negara, termasuk Bangladesh, Butan, Kamboja, Indonesia, Lao PRD, Malaysia, Myanmar, Filipina, Thailand, Vietnam, dan Papua New Guinea (Barden *et al. dalam* Gunn *et al.*, 2004).

Gaharu terjadi melalui proses patogenesis dimana jenis patogen fungi tertentu menginfeksi jenis pohon tertentu dan sebagai respon terhadap serangan patogen, pohon menghasilkan metabolit sekunder atau senyawa resin yang menyebabkan bau wangi ketika dibakar. Selain ditemukan pada kedua genus di atas, produk unik ini juga dapat terjadi pada beberapa genus tanaman lainnya, yaitu *Aetoxylon*, *Enkleia*, *Phaleria*, *Wikstroemia*, dan *Gonystylus*.

Keberadaan gaharu di alam semakin menipis. Agar ketersediaan produk gaha-

ru dan pohon penghasil gaharu tidak punah dan untuk menjaga kesinambungan produksi gaharu yang lestari, perlu upaya budidaya pohon penghasil gaharu. Gaharu hasil budidaya diharapkan akan dapat memenuhi kebutuhan pasokan gaharu untuk ekspor ke negara-negara pemakai. Budidaya merupakan kunci utama dalam meningkatkan produksi gaharu yang semakin berkurang.

Kegiatan budidaya pohon penghasil gaharu tidak terlepas dari penyediaan bibit yang berkualitas tinggi. Lain halnya dengan komoditas pertanian yang langsung ditanam di lapangan, persiapan bibit kehutanan dilakukan mulai di persemaian. Upaya peningkatan mutu bibit di persemaian dapat dilakukan dengan pemupukan, penggunaan biji yang bermutu baik, dan inokulasi mikroba yang dapat memacu pertumbuhan seperti bakteri penghuni perakaran yang disebut rhizobakteri pemacu pertumbuhan tanaman (RPPT atau *plant growth promoting rhizobacteria*). Istilah RPPT digunakan untuk bakteri yang dapat membantu pertumbuhan tanaman melalui mekanisme yang beragam, baik secara langsung maupun tidak langsung (Glick, 1995; Kokalis-Burelle *et al.*, 2006). Mekanisme ini meliputi produksi fitohormon, solubilisasi atau mineralisasi fosfat, penambatan nitrogen, *sequestration* besi oleh siderofor, membantu proses terbentuknya mikoriza dan pencegahan terjadinya serangan patogen tular tanah (Garbaye, 1994; Glick, 1995; Lucy *et al.*, 2004). Di antara mekanisme ini, fitohormon mendapatkan perhatian penelitian, karena aplikasi bakteri penghasil fitohormon dilaporkan meningkatkan produksi tanaman inang secara berkesinambungan (Narula *et al.*, 2006). Narula *et al.* (2006) mengatakan bahwa dalam studi pemanfaatan bakteri penambat nitrogen untuk meningkatkan produksi tanaman, kandungan nitrogen pada tanaman yang diinokulasi tidak meningkat secara nyata, sehingga respon peningkatan pertumbuhan tanaman disebabkan

oleh mekanisme lain dan bukan nitrogen dan diduga adalah produksi fitohormon oleh bakteri penambat nitrogen tersebut. *Azospirillum* sp. yang dikenal sebagai bakteri penambat nitrogen, misalnya dapat memproduksi tiga jenis fitohormon yaitu asam indol asetat (AIA/auksin), gibberelin (AG), dan kinetin, sedangkan bakteri *Azospirillum chroococcum* diketahui dapat memproduksi AIA, AG, dan sitokinin (berbagai sumber dalam Narula *et al.*, 2006). Mikroorganisme yang menghuni rhizosfir berbagai macam tanaman umumnya memproduksi auksin sebagai metabolit sekunder sebagai respon terhadap suplai eksudat akar yang berlimpah di zona perakaran. Barbieri *et al.* (1986) dalam Ahmad *et al.* (2005) melaporkan bahwa bakteri *Azospirillum brasilense* meningkatkan jumlah dan panjang akar lateral, sedangkan bakteri *Pseudomonas putida* GR12-2 pada bibit canola meningkatkan panjang akar sampai tiga kali lipat. Dikatakan bahwa bakteri penghasil hormon pertumbuhan diduga memegang peranan penting dalam memacu pertumbuhan tanaman. Namun, sampai saat ini informasi penelitian tentang pemanfaatan bakteri fitohormon untuk tanaman kehutanan di daerah tropis masih terbatas.

Untuk menguji hipotesa ini, maka dilakukan penelitian uji aplikasi bakteri penghasil AIA/auksin dalam memacu pertumbuhan bibit penghasil gaharu *Aquilaria* sp. di persemaian. Dalam penelitian ini, bakteri terlebih dahulu diseleksi secara *in-vitro* untuk mengetahui kapasitasnya sebagai bakteri penghasil fitohormon AIA/auksin.

II. BAHAN DAN METODE

A. Bakteri Penghasil Fitohormon: Identifikasi, Karakterisasi *in-vitro*, dan Persiapan Inokulum

Rhizobakteri diisolasi dari rhizosfir dan rhizoplan bibit atau *sapling* menggunakan media campuran mineral Winoogradsky's bebas N dengan pH 5,6-6,2

yang mengandung 1% sukrosa sebagai sumber karbon dan 0,3% *gellan gum* sebagai bahan pematat (Hashidoko *et al.*, 2002).

Rhizobakteri ini kemudian diidentifikasi secara molekuler mengikuti metode Weisburg *et al.* (1991). Analisis sekuens DNA menggunakan BigDye Terminator v3.1 cycle (Applied Biosystems, Foster City, USA) dengan empat pilihan primer, yaitu 926F (5 AA ACTCAAAGGAATTGACGG 3), 518R (5 GTATTACCGCGCTGCTGG 3), 1112F (5 GTCCCGCAACGAGCGCAAC 3), dan/atau 1080RM (5 ACGAGCTGACGACA 3). Homologi sekuens ditelusuri dengan menggunakan *BLASTN online DNA database in National Center for Biotechnology Information (NCBI)*.

Seleksi awal rhizobakteri secara *in-vitro* dilakukan untuk mengetahui kemampuannya dalam memproduksi fitohormon (asam indol asetat-AIA) melalui karakterisasi kualitatif dan kuantitatif. Karakterisasi kualitatif menggunakan metode *colorimetric* Brick *et al.* (1991) yang dimodifikasi sebagai berikut: rhizobakteri ditumbuhkan dalam media agar Winoogradsky's yang dimodifikasi (AWM) yang diberi 100 mg/L L-tryptophan (C₁₁H₁₂N₂O₂). Setelah agar diinokulasi rhizobakteri, media ditumpuk dengan membran *nitrocellulose* berukuran pori 0,45µm, diameter 47 mm, dan diinkubasi dalam gelap pada suhu 28°C. Setelah inkubasi selama tiga hari, membran dipindahkan dan ditumpuk pada kertas saring berdiameter 55 mm No. 2 (Advantec, Tokyo Roshi Kaisha Ltd., Tokyo, Japan) yang telah direndam sebelumnya dalam larutan Salkowski. Perubahan warna diamati setelah 30 menit kemudian. Rhizobakteri yang mampu memproduksi AIA akan membentuk cincin *halo* warna merah di sekitar koloni (Gambar 1). Intensitas warna yang terbentuk, kemudian dikelompokkan menjadi merah muda, merah, dan merah tua, sedangkan karakterisasi AIA secara kuantitatif dilakukan meng-

ikuti metode Narula (2004). Rhizobakteri yang membentuk cincin *halo* berwarna merah muda sampai merah pekat digunakan untuk uji kuantitatif AIA. Rhizobakteri dikulturkan pada media MW cair yang ditambah dengan 100mg/L L-tryptophan dan diinkubasikan pada suhu 28°C dalam kondisi statis di dalam gelap selama tujuh hari. Kemudian larutan Salkowski ditambahkan pada *supernatant* kultur rhizobakteri. Setelah 0,5 jam, pembentukan warna dibaca pada A_{665nm} . Strain rhizobakteri yang bereaksi positif dengan larutan Salkowski kemudian diuji untuk mengetahui kemampuannya dalam memacu pertumbuhan akar *Vigna radiata* sebagai tanaman uji. Namun demikian, uji lanjutan pada *V. radiata* tidak menunjukkan adanya korelasi yang positif antara intensitas kepekatan warna merah dengan laju pertumbuhan tanaman (tinggi dan total panjang akar). Tidak adanya ko-

relasi yang spesifik ini mengindikasikan bahwa kepekatan warna merah bukan merupakan indikasi tingginya kuantitas IAA yang dihasilkan melainkan diduga merupakan indikasi perbedaan/variasi derivat dari senyawa indol yang dikonversi dari L-tryptophan. Glickmann dan Desaux (1995) menyatakan bahwa larutan Salkowsky memberikan respon positif tidak hanya terhadap auksin (IAA) melainkan juga terhadap asam indolpiruvat dan *indoleacetamide*.

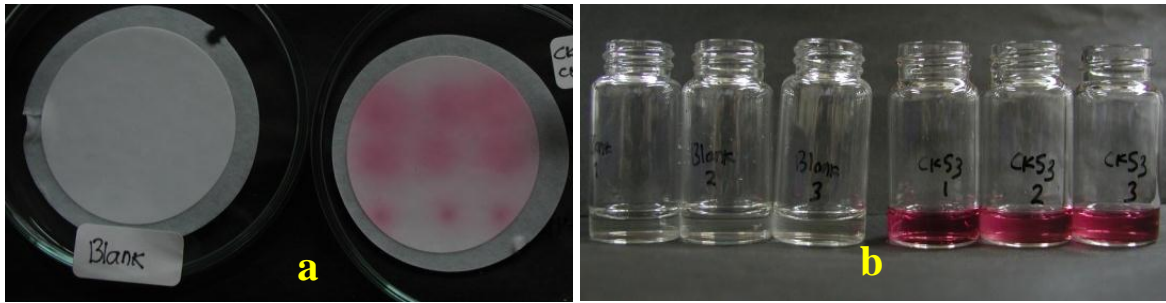
Ketiga uji pendahuluan untuk mendapatkan bakteri penghasil AIA, maka dipilih sembilan bakteri (Tabel 1), selain itu digunakan juga satu isolat bakteri pemacu asosiasi mikoriza, yaitu *Chromobacterium* sp. CK8, karena *Aquilaria* sp. diketahui berasosiasi dengan fungi mikoriza arbuskula, untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam membantu terbentuknya asosiasi mikoriza pada bibit *Aquilaria* sp.

Tabel (Table) 1. Informasi bakteri PGPR penghasil fitohormon yang digunakan sebagai inokulum (*PGPR used for inoculation and their information*)

Inang (Host)	Substrat (Substrate)	Stadium (Stadium)	Asal lokasi (Locality)	Strain bakteri (Bacterial strain)	Sub kelas (Sub class)	Hasil analisis colorimetric AIA (Colorimetric assay result of IAA)
<i>Dipterocarpus</i> sp.	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 th	Nyaru Menteng	<i>Stenotrophomonas</i> sp. CK34	Proteobacteria	Merah (Red)
<i>Hopea</i> sp.	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 tah	Nyaru Menteng	<i>Bacillus</i> sp. CK41	Bacilli	Merah muda (Pink)
<i>S. teysmanniana</i>	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 th	Nyaru Menteng	<i>Azospirillum</i> sp. CK26	Proteobacteria	Merah muda (Pink)
<i>S. teysmanniana</i>	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 tah	Nyaru Menteng	<i>Burkholderia</i> sp. CK28 (DQ195889)	Proteobacteria	Merah muda pupus (Light pink)
				<i>Burkholderia</i> sp. CK59 (DQ195914)	Proteobacteria	Merah muda pupus (Light pink)
<i>Dipterocarpus</i> sp.	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 th	Nyaru Menteng	<i>Serratia</i> sp. CK67	Proteobacteria	Merah muda pupus (Light pink)
<i>S. teysmanniana</i>	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Bibit~ 6 bln	Nyaru Menteng	NI CK53		Merah tua (Dark red)
				NI CK54		Merah tua (Dark red)
<i>S. balangeran</i>	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1 bln	Pembibitan UP	NI CK 61		Merah muda (Pink)
<i>S. parviflora</i>	Rizoplan (<i>Rhizoplane</i>)	Sapling ~1.5 th	Nyaru Menteng	<i>Chromobacterium</i> sp. CK8 (DQ195926)	Proteobacteria	*

Catatan (Notes):

S = *Shorea*; NI = Bakteri yang belum teridentifikasi (*Unidentified*); UP = Universitas Palangkaraya (*Palangkaraya University*); *Isolat (*Isolate*) *mycorrhization helper bacteria*; AIA: Asam Indol Asetat (*Indole-3-acetic acid*)



Gambar (Figure) 1. Warna merah yang terbentuk di sekitar koloni setelah direaksikan dengan *reagen* Salkowski. (a) Pembentukan warna pada membran nitroselulose tiga hari setelah inkubasi, (b) Pembentukan warna pada media cair. Bakteri NICK53 yang membentuk warna merah tua dibanding dengan kontrol media tanpa bakteri (*Red color formed around the colony after reaction with Salkowski's reagent. (a) Color formation on nitrocellulose membrane, 3 days after incubation, (b) Color formation on liquid media. NICK53 isolate formed dark red color compared to white non-bacterial inoculated control*)

B. Inokulasi Bakteri Fitohormon pada Bibit *Aquilaria* sp.

Sel bakteri yang ditumbuhkan pada media cair MW + 100mg/L L-tryptophan diinkubasi dengan menggoyang kultur selama tiga hari pada suhu 28°C, setelah itu kultur bakteri agak dikentalkan dengan menambahkan 0,5% *gellan gum* selama 30 menit. Inokulasi dilakukan pada bibit yang berumur empat minggu dengan cara merendam bibit dalam larutan bakteri selama 30 menit kemudian ditanam dalam *polybag* yang berisi 500 g media tanah yang tidak steril. Pada saat penanaman, 1 ml larutan bakteri juga disebar di daerah perakaran. Bibit ditumbuhkan di rumah kaca dan disiram setiap hari dengan air kran. Pengamatan dilakukan terhadap tinggi, diameter, dan bobot kering biomassa.

C. Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Penelitian menggunakan rancangan acak lengkap dengan faktor tunggal, yaitu 10 isolat bakteri, masing-masing diulang sebanyak 10 bibit per perlakuan. Data dianalisis secara statistik dengan analisis sidik ragam menggunakan program SPSS® version 10.0 (SPSS Inc., Chicago, USA). Data yang berbeda nyata diuji lanjut dengan *Least Significant Difference* untuk

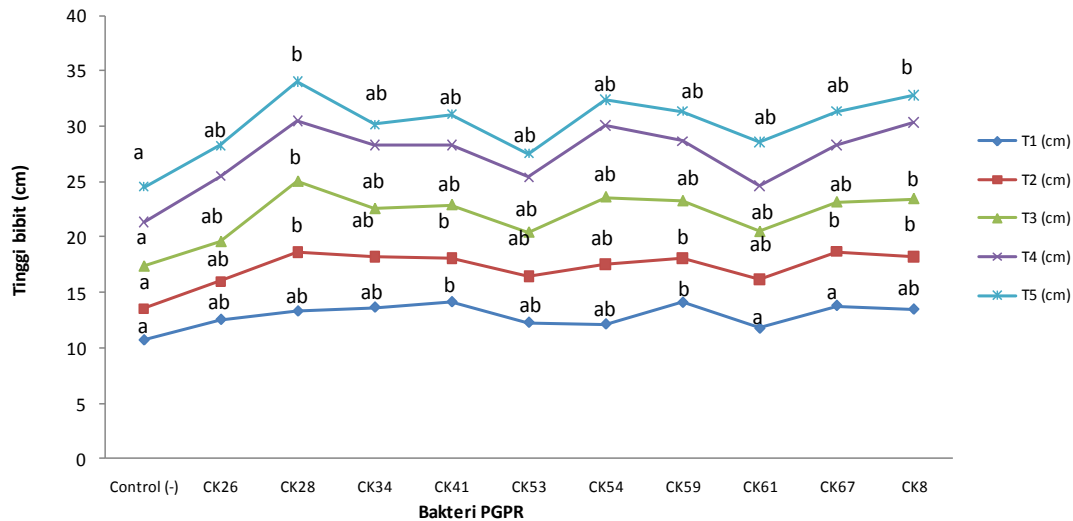
mengelompokkan perlakuan yang tidak berbeda nyata. Parameter yang diukur untuk mengetahui respon bibit terhadap inokulasi, yaitu tinggi, diameter, berat kering total, indeks mutu bibit, dan persentase peningkatan pertumbuhan.

Analisis persentase peningkatan pertumbuhan dilakukan sebagai berikut:

$$\% \text{ Peningkatan} = \frac{\text{Bibit yang diinokulasi} - \text{bibit kontrol}}{\text{Bibit kontrol}} \times 100$$

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Bibit *Aquilaria* sp. menunjukkan respon beragam terhadap inokulasi bakteri fitohormon (Gambar 2). Bakteri fitohormon memberikan pengaruh positif, netral atau negatif terhadap pertumbuhan tanaman jika dibandingkan dengan tanaman yang tidak diinokulasi (kontrol negatif). Respon tanaman diamati melalui pertumbuhan tinggi dan diameter setiap bulannya. Bakteri fitohormon memberikan pengaruh nyata terhadap tinggi tanaman mulai 1-5 bulan setelah inokulasi ($P < 0,05$). Dua isolat bakteri, yaitu *Burkholderia* sp. CK28 (DQ195889, β Proteobacteria) dan *Chromobacterium* sp. CK8 (DQ195926, β Proteobacteria) merupakan isolat yang paling konsisten dalam memberikan pengaruh paling efektif



Gambar (Figure) 2. Pengaruh bakteri PGPR terhadap pertumbuhan tinggi bibit *Aquilaria* sp. sampai lima bulan setelah inokulasi. Angka di atas notasi adalah peningkatan pertumbuhan dibanding kontrol (Effect of PGPR inoculation on height growth from one to five months after inoculation. Letters above numbers are percentage of increase over non-inoculated control seedlings)

dalam meningkatkan pertumbuhan tinggi selama lima bulan setelah inokulasi (Gambar 2). Kedua bakteri ini berasal dari rhizoplan *S. teysmanniana* umur kurang lebih satu tahun dan *S. parviflora* umur kurang lebih 1,5 tahun dari arbo-retum Nyaru Menteng, Kalimantan Tengah.

Peningkatan pertumbuhan tinggi bibit *Aquilaria* sp. berkisar antara 12,2-38,7% dibandingkan dengan bibit yang tidak diinokulasi pada lima bulan setelah inokulasi. Semua bibit yang diinokulasi secara signifikan memiliki pertumbuhan tinggi yang lebih baik daripada tanaman kontrol melalui analisis *Least Significant Difference* (LSD).

Pertumbuhan diameter tidak menunjukkan respon yang konsisten terhadap inokulasi (Tabel 2). Respon yang serupa juga telah dilaporkan oleh Sitepu *et al.* (2007) bahwa respon diameter bibit *Shorea selanica* terhadap inokulasi RPPT tidak konsisten. Dijelaskan bahwa tanaman hutan, pertumbuhannya jauh lebih lambat dari tanaman pertanian, sehingga untuk pertumbuhan stadium awal di persemaian, tinggi merupakan parameter yang *reliable* untuk mengamati respon bi-

bit terhadap inokulasi mikroba pemacu pertumbuhan. Pada habitat hutan yang rimbun dengan kanopi yang bertingkat, bibit yang tumbuh di lantai hutan perlu memiliki kemampuan untuk segera tumbuh tinggi bersaing dengan bibit di sekitarnya untuk mendapatkan cahaya agar dapat tumbuh baik.

Inokulasi tidak memberikan pengaruh nyata terhadap pertumbuhan tinggi, enam bulan setelah inokulasi, juga terhadap berat kering total, rasio pucuk terhadap akar, dan indeks mutu bibit (Gambar 3 dan Gambar 4). Inokulasi juga tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan setelah bibit dipindah ke lapangan, bibit cenderung tumbuh lambat (Tabel 2). Bibit *Aquilaria* sp. ditumbuhkan di bawah tegakan meranti di Hutan Penelitian Drama.

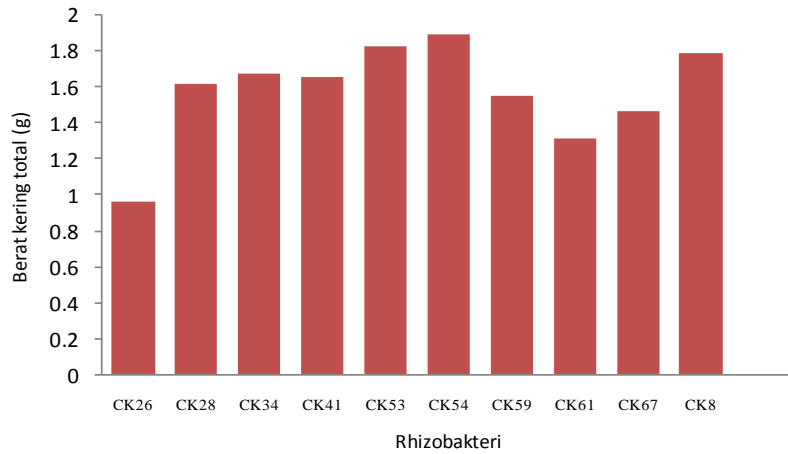
Tidak responnya bibit terhadap bakteri, enam bulan setelah inokulasi, dapat dijelaskan sebagai berikut: tanah sebagai media tumbuh dan bibit *Aquilaria* sp. Tidak disterilisasi pada saat inokulasi bakteri, sehingga mikroba alami yang terdapat dalam tanah kemudian bebas untuk berinteraksi dengan bakteri yang diinokulasikan. Diduga tidak adanya respon bibit

Tabel 2 (Table). Analisis sidik ragam pada parameter pertumbuhan yang diukur (Analysis of variance of observed growth parameters)

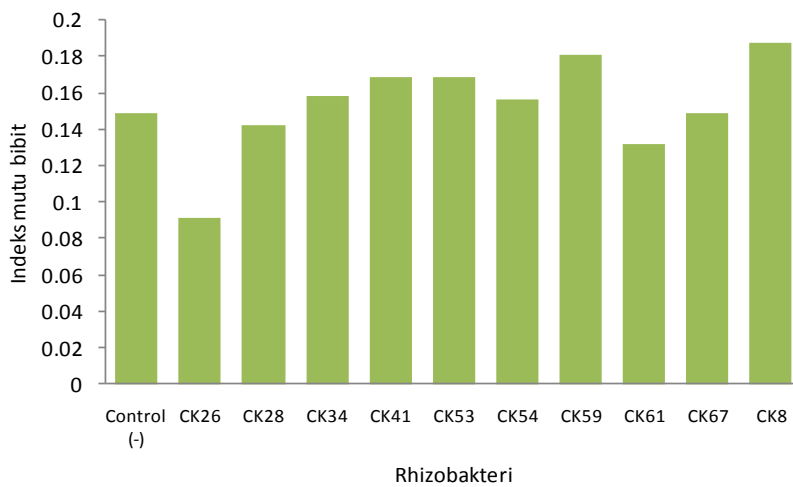
Parameter (Parameter)	Analisa sidik ragam (Analysis of variance)					
	Bulan (Month) 1	Bulan (Month) 2	Bulan (Month) 3	Bulan (Month) 4	Bulan (Month) 5	Bulan (Month) 6
Diameter (Diameter) (mm)	tn	tn	*	*	tn	tn
Tinggi (Height) (cm)	*	*	*	*	*	tn
Berat kering pucuk (Dry shoot weight) (g)	tn					
Berat kering akar (Dry root weight) (g)	tn					
Berat kering total (Total biomass) (g)	tn					
Rasio (Ratio) P/A	tn					
Indeks mutu bibit (Seedling quality index)	tn					

Catatan (Notes):

tn: Tidak nyata pada taraf 0,05 (Non significant at the level of $\alpha = 0.05$); *: Nyata pada taraf 0,05 (Significant at the level of $\alpha=0.05$); P/A : Pucuk/akar (Shoot/root)



Gambar (Figure) 3. Berat kering total bibit *Aquilaria* sp. yang diinokulasi bakteri (Total biomass of *Aquilaria* sp. inoculated by bacteria)



Gambar (Figure) 4. Indeks mutu bibit *Aquilaria* sp. yang diinokulasi bakteri (Seedlings quality index of *Aquilaria* sp. inoculated by bacteria)

yang nyata pada bulan keenam dan selanjutnya disebabkan bibit telah terinfeksi oleh fungi mikoriza secara alami yang dapat berasal dari tanah maupun air yang dipakai untuk menyiram tanaman walaupun analisis infeksi mikoriza alami tidak dilakukan. Fungi mikoriza dilaporkan baru berperan efektif tujuh bulan setelah inokulasi pada tanaman Dipterokarpa, yaitu *Shorea leprosula*, *S. acuminata*, *Hopea odorata* dan *S. pinanga* (Lee, 1990; Yazid *et al.*, 1994; Turjaman *et al.*, 2005). Pada bibit *Aquilaria* sp. dalam penelitian ini, pengaruh mikoriza dimulai lebih awal, yaitu pada enam bulan setelah inokulasi. Bakteri tertentu dapat berperan dalam merangsang terbentuknya asosiasi mikoriza antara fungi mikoriza dan tanaman inangnya. Salah satu dari kedua inokulan yang paling efektif yaitu *Chromobacterium* sp. CK8 adalah bakteri yang telah diuji secara *in-vitro* dapat membantu pertumbuhan miselia fungi ektomikoriza *Laccaria* sp. Penelitian yang dilakukan oleh Poole *et al.* (2001) menunjukkan bahwa bakteri *Paenibacillus* sp., *Burkholderia* sp., dan *Rhodococcus* sp. merangsang infeksi ektomikoriza pada tahapan pembentukan akar lateral antara *Laccaria rufus* dan *Pinus sylvestris*. *Paenibacillus monteilii* dan *P. resinovorans* memacu simbiosis antara *Pisolithus alba* dengan *Acacia holosericea* dimana *P. monteilii* meningkatkan biomassa fungi di dalam tanah (Founoune *et al.*, 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Enebak *et al.* (1998) pada bibit *loblolly* dan *slash pine* menunjukkan bahwa inokulasi RPPT meningkatkan biomassa tegakan. Pengaruh tidak langsung dari inokulasi RPPT berupa pembentukan asosiasi mikoriza (disebut sebagai *mycorrhizal helper bacteria*, MHB) juga telah dilaporkan. *Pseudomonas fluorescense* BBc6R8 memacu simbiosis antara *Laccaria bicolor* S238N-Douglas fir (*Pseudotsuga menziesii*) dan efek dari bakteri MHB ini paling efektif pada saat fungi mikoriza tumbuh berada pada kondisi

yang tidak optimal (Garbaye, 1994; Brule *et al.*, 2001).

Untuk mengetahui apakah fenomena MHB ini juga berlaku untuk *Aquilaria* sp. dan apakah hipotesa di atas benar, maka perlu uji lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh inokulasi ganda antara bakteri dan fungi mikoriza arbuskula dalam memacu pertumbuhan bibit, baik di persemaian maupun di lapangan. Penelitian yang dilakukan oleh Kashyap *et al.* (2004) menunjukkan bahwa inokulasi ganda fungi mikoriza arbuskula dan bakteri *Azotobacter* dengan tambahan asam indol butirrat secara nyata meningkatkan *survival rate sapling Morus alba* (Moraceae) yang ditanam pada kondisi yang bergaram tinggi dari 25-50%. Dalam hal ini bibit bermikroba dapat meningkatkan ketahanan tumbuh tanaman pada kondisi ekstrim.

Dalam penelitian ini, pendekatan yang dilakukan adalah menyeleksi bakteri secara *in-vitro* terlebih dahulu sebelum dilakukan uji pada tanaman target di persemaian. Uji *in-vitro* merupakan metode yang praktis, terutama dalam menyeleksi isolat dalam jumlah besar sebelum dilakukan uji selanjutnya. Hasil *in-vitro* didapat sembilan bakteri penghasil indol kemudian diuji lanjut pada bibit *Aquilaria* sp. Hasil uji lanjut di persemaian ini, satu dari sembilan bakteri penghasil fitohormon, yaitu *Burkholderia* sp. CK28 yang menghasilkan warna *pink* muda pada uji *colorimetric*, terbukti efektif dalam meningkatkan pertumbuhan bibit *Aquilaria* sp.

IV. KESIMPULAN

Bibit *Aquilaria* sp. menunjukkan respon beragam terhadap inokulasi bakteri penghasil fitohormon. Inokulasi bakteri penghasil fitohormon dapat meningkatkan tinggi bibit *Aquilaria* sp. berturut-turut selama lima bulan setelah inokulasi. Peningkatan pertumbuhan tinggi bervariasi dari 12,2-38,7% dibandingkan dengan

bibit yang tidak diinokulasi. *Burkholderia* sp. CK28 dan *Chromobacterium* sp. CK8 adalah dua bakteri yang secara konsisten memacu pertumbuhan tinggi. Uji lanjutan inokulasi ganda dengan fungi mikoriza arbuskula yang dapat membantu menyediakan unsur fosfat, perlu dilakukan untuk mengetahui interaksi mikroba dalam memacu pertumbuhan bibit pada stadia lanjut di persemaian (setelah lima bulan) sebelum dipindah ke lapangan.

UCAPAN TERIMAKASIH

Para penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Ahmad Yani di Laboratorium Mikrobiologi Hutan dan Bapak Zaenal atas bantuan selama pelaksanaan penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, F., I. Ahmad, and M.S. Khan. 2005. Indole Acetic Acid Production by the Indigenous Isolates of *Azotobacter* and Fluorescent *Pseudomonas* in the Presence and Absence of Tryptophan. *Turkish Journal of Biology* 29: 29-34.
- Brick, J.M., R.M. Bostock, and S.E. Silverstone. 1991. Rapid *in situ* Assay for Indoleacetic Acid Production by Bacteria Immobilized on a Nitrocellulose Membrane. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 535-538.
- Brulé, C., P. Frey-Klett, J.C. Pierrat, S. Courier, F. Gerard, M.C. Lemoine, J.L. Rousset, G. Sommer, and J. Garbaye. 2001. Survival in the Soil of the Ectomycorrhizal Fungus *Laccaria bicolor* (Maire) P.D. Orton 1960 and the Effects of Mycorrhiza Helper *Pseudomonas fluorescens* Migula, 1895. *Soil Biology and Biochemistry* 33: 1683-1694.
- Enebak, S.A., G. Wei, and J.W. Kloepper. 1998. Effect of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Loblolly and Slash Pine Seedlings. *Forest Science* 44: 139-144.
- Founoune, H., R. Duponnois, A.M. Ba, S. Sall, I. Branget, J. Lorquin, M. Neyra, and J.L. Chotte. 2002. Mycorrhiza Helper Bacteria Stimulate Ectomycorrhizal Symbiosis of *Acacia holosericea* with *Pisolithus alba*. *New Phytologist* 153: 81-89.
- Garbaye, J. 1994. Helper Bacteria : a New Dimension to the Mycorrhizal Symbiosis. *New Phytologist* 128: 197-210.
- Glick, B.R. 1995. The Enhancement of Plant Growth by Free-Living Bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 41: 109-117.
- Glickmann, E., and Y. Dessaux. 1995. A Critical Examination of the Specificity of the Salkowski Reagent for Indolic Compounds Produced by Phytopathogenic Bacteria. *Applied Environmental Microbiology* 61: 793-796.
- Gunn, B.V., P. Stevens, M. Singadan, L. Sunari, and P. Chatterton. 2004. Eaglewood in Papua New Guinea. Resource Management in Asia-Pacific Working Paper No. 51. The Australian National University. Canberra. 18 pp.
- Hashidoko, Y., M. Tada, M. Osaki, and S. Tahara. 2002. Soft Gel Medium Solidified with Gellan Gum for Preliminary Screening for Root-Associating, Free-Living Nitrogen-Fixing Bacteria Inhabiting the Rhizoplane of Plants. *Bioscience Biotechnology Biochemistry* 66: 2259-2263.
- Kokalis-Burelle, N., J.W. Kloepper, and M.S. Reddy. 2006. Plant Growth-Promoting Rhizobacteria as Transplants Amendments and Their Effects on Indigenous Rhizosphere Microorganisms. *Applied Soil Ecology* 31: 91-100.
- Lee, S.S. 1990. The Mycorrhizal Association of the Dipterocarpaceae in the

- Tropical Rain Forests of Malaysia. *AMBIO* 19: 383-385.
- Lucy, M., E. Reed, B.R. Glick. 2004. Applications of Free Living Plant Growth-Promoting Rhizobacteria. *Antonie van Leeuwenhoek* 86: 1-25.
- Narula, N., A. Deubel, W. Gans, R.K. Behl, and W. Merbach. 2006. Paranodules and Colonization of Wheat Roots by Phytohormone Producing Bacteria in Soil. *Plant Soil Environment* 52: 119-129.
- Narula, N. 2004. *Biofertilizer Technology-A manual*. Department of Microbiology. CCS Haryana Agricultural University, Hisar, India. pp. 67.
- Poole, E.J., G.D. Bending, J.M. Whipps, and D.J. Read. 2001. Bacteria Associated with *Pinus sylvestris* L.-*Lactarius rufus* (Scop.) Fr. 1838 Ectomycorrhizas and Their Effects on Mycorrhiza Formation *in vitro*. *New Phytologist* 151: 743-751.
- Sitepu, I.R. 2007. Screening of Plant-Growth Promoting Rhizobacteria from Dipterocarpaceae Plants Growing in Indonesian Tropical Rain Forests and Investigations of Their Functions on Seedling Growth. PhD Dissertation. Hokkaido University. 91 pp.
- Turjaman, M., Y. Tamai, H. Segah, S.H. Limin, J.Y. Cha, M. Osaki, and K. Tawaraya. 2005. Inoculation with the Ectomycorrhizal Fungi *Pisolithus arhizus* (Scop.) and *Scleroderma* sp. Improves Early Growth of *Shorea pinanga* Scheff Nursery Seedlings. *New Forest* 30: 67-73.
- Weisburg, W. G., S.M. Barns, D.A. Pelletier, and D.J. Lane. 1991. 16S Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. *Journal of Bacteriology* 173: 697-707.
- Yazid, S.M., S.S. Lee, and F. Lapeyrie. 1994. Growth Stimulation of *Hopea* spp. (Dipterocarpaceae) Seedlings Following Ectomycorrhizal Inoculation with an Exotic Strain of *Pisolithus tinctorius*. *Forest Ecology Management* 67: 339-343.