

Isolasi dan Karakterisasi Plant Growth Promoting Rhizobacteria dari Perakaran Kelapa Sawit pada Lahan Gambut

Isolation and Characterization of Plant Growth Promoting Rhizobacteria from Oil Palm Roots on Peatlands

Mei Dwi Ariyani^{a,*}, Tirta Kumala Dewi^b, Sri Pujiyanto^a, dan Agung Suprihadi^a

^aDepartemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro

Jalan Prof. Soedarto, SH, Semarang, 50275

^bBidang Mikrobiologi, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia,
Jl. Raya Jakarta Bogor Km 46, Cibinong, Bogor 16911, Jawa Barat

Corresponding Author ; ariyanimei25@gmail.com

Abstract

Peatlands have characteristics of low pH and lack nutrients. Oil palm is the main plant commodity in peatland management. Oil palm roots have been known to be a nutrition source for the growth of soil microbes, especially bacteria around their roots or PGPR. PGPR are a group of bacteria that play an important role in supporting plant growth and health. The purpose of this research was to obtain PGPR potential from oil palm roots which can be used as candidates for biofertilizer agents. In this study, the isolation and selection of PGPR isolate from oil palm roots on oil palm plantations in Central Kalimantan were carried out based on their plant growth-promoting traits, including the activity of producing Indole Acetic Acid (IAA), phosphate solubilizing, N-fixing, K solubilizing, siderophore production, ACC deaminase activity, proteolytic activity, cellulolytic activity, and ligninolytic activity. A total of 17 isolates were selected to be tested for their multiple activities ability. The final results of the PGPR characterization showed that of the seventeen isolates, all isolates had PGPR activity at least three different abilities. From the seventeen isolates, it was found that the SW 5.5 PK 3A isolate had the highest IAA production activity (58,50 ppm), SW 4.10 PK 1A isolate had the highest K solubilizing index (3,16), SW 8.5 PK 1A isolate had both the highest P solubilizing index (3,73) and the highest siderophore zone index (5,20), SW 4.11 PK isolate had the highest proteolytic index (4,80), and SW 4.10 PK 1A.P isolates had the highest cellulolytic index (5,11).

Key words: *Oil palm, peatland, PGPR activities, biofertilizer*

Abstrak

Lahan gambut merupakan lahan yang mempunyai pH yang rendah serta ketersediaan unsur hara yang rendah. Tanaman kelapa sawit menjadi komoditi utama dalam pengelolaan lahan gambut. Perakaran kelapa sawit telah diketahui mampu menjadi sumber nutrisi bagi pertumbuhan mikroba tanah khususnya bakteri di sekitar perakaran atau PGPR. PGPR dikenal sebagai kelompok bakteri yang mampu mendukung pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan PGPR potensial dari perakaran kelapa sawit yang dapat dijadikan kandidat agens pupuk organik hidup. Dalam penelitian ini dilakukan isolasi dan seleksi isolat PGPR dari perakaran kelapa sawit dari perkebunan kelapa sawit di Kalimantan Tengah berdasarkan karakterisasinya, antara lain aktivitas penghasil *Indole Acetic Acid* (IAA), pelarut fosfat, penambat N, pelarut K, produksi siderofor, penghasil enzim ACC deaminase, aktivitas proteolitik, aktivitas selulolitik, dan aktivitas ligninolitik. Sebanyak 17 isolat terpilih untuk di uji kemampuan multi aktivitasnya. Hasil akhir karakterisasi aktivitas PGPR menunjukkan bahwa dari ketujuh belas isolat, seluruh isolat mempunyai aktivitas PGPR setidaknya tiga kemampuan berbeda. Dari ketujuh belas isolat tersebut didapatkan bahwa isolat SW 5.5 PK 3A mempunyai aktivitas produksi IAA tertinggi (58,50 ppm), isolat SW 4.10 PK 1A mempunyai aktivitas pelarut K tertinggi (3,16), isolat SW 8.5 PK 1A mempunyai indeks pelarutan P tertinggi (3,73) dan indeks zona siderofor tertinggi (5,20), isolat SW 4.11 PK mempunyai indeks proteolitik tertinggi (4,80), dan isolat SW 4.10 PK 1A.P mempunyai indeks selulolitik tertinggi (5,11).

Kata Kunci: *Kelapa sawit, lahan gambut, aktivitas PGPR, pupuk organik hidup*

PENDAHULUAN

Lahan gambut mempunyai pH yang rendah, serta ketersediaan unsur makro dan mikro yang rendah, sehingga pertumbuhan mikroorganisme khususnya bakteri tanah kurang optimal. Salah satu tanaman yang mampu beradaptasi dengan

baik pada lahan gambut adalah komoditi kelapa sawit. Perkebunan kelapa sawit pada lahan gambut mampu memengaruhi keragaman mikroorganisme tanah terutama pada rhizosfer tanah. Hal ini dikarenakan eksudat akar kelapa sawit menjadi sumber nutrisi bagi mikroba di sekitar akar kelapa

sawit untuk melakukan aktivitasnya, seperti kelompok bakteri *Azotobacter*, mikroba pelarut fosfat, ataupun bakteri selulolitik (Ohiwal *et al.*, 2017; Pratiwi *et al.*, 2018).

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah kelompok bakteri tanah yang berasosiasi pada perakaran tanaman pada rhizosfer tanah. PGPR mampu mendukung pertumbuhan dan kesehatan tanaman termasuk meningkatkan produktivitas tanaman. Beberapa mekanisme PGPR dalam memacu pertumbuhan dan kesehatan tanaman antara lain produksi hormon tumbuh, peningkatan pengambilan unsur hara oleh tanaman, toleransi terhadap cekaman abiotik, dan serta pertahanan terhadap fitopatogen. PGPR merupakan agens pupuk organik hidup sehingga berperan penting dalam terciptanya pertanian berkelanjutan (Vejan *et al.*, 2016; Kalam *et al.*, 2017).

PGPR telah banyak diaplikasikan pada lahan pertanian dalam bentuk pupuk organik hidup. PGPR berperan dalam proteksi tanaman pertanian baik secara langsung ataupun tidak langsung. Mekanisme PGPR dalam mendukung pertumbuhan dan kesehatan tanaman secara langsung berupa kemampuan menghasilkan hormon tanaman (IAA, etilen, sitokin, dan asam giberalat), fiksasi nitrogen, pelarut P, pelarut potassium, peningkatan pengambilan unsur hara dan air, serta mekanismenya terhadap cekaman dengan aktivitas enzimatis ACC deaminase. sedangkan mekanisme tidak langsung sebagai agen biokontrol (pertahanan tanaman) berupa produksi protease, kitinase, sianida ataupun antibiotik (Gupta *et al.*, 2015; Mehmood *et al.*, 2018; Zhou *et al.*, 2016). Mikroorganisme ini mungkin tidak hanya memastikan ketersediaan nutrisi penting bagi tanaman, tetapi juga meningkatkan efisiensi penggunaan nutrisi (Khalid *et al.*, 2009).

Pemanfaatan PGPR dalam mendukung pertumbuhan tanaman ini biasa dalam bentuk pupuk organik hidup. Pupuk organik hidup merupakan pupuk yang terdiri oleh organisme hidup yang bersifat indigenous pada perakaran tanaman, seperti *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR). Pengaplikasian pupuk organik hidup ini selain membantu memperkaya nutrisi namun juga dapat menjaga struktur tanah. Menurut Mehmood *et al.* (2018), PGPR tidak hanya berperan dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman tetapi juga proteksi melawan mikroorganisme patogen. Oleh karena itu, PGPR dapat dijadikan sebagai bahan pupuk organik hidup yang ramah lingkungan dan menjadi alternatif dalam mengurangi penggunaan pupuk

kimiawi sehingga terciptanya pertanian yang berkelanjutan.

Kemampuan PGPR ini perlu dikembangkan secara optimal untuk memacu pertumbuhan tanaman dan kesehatan tanah sehingga mampu mendukung terciptanya pertanian yang berkelanjutan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan kelompok PGPR potensial dari perakaran kelapa sawit pada rhizosfer lahan gambut Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Oleh karena itu, pada penelitian kali ini dilakukan isolasi dan seleksi isolat PGPR berdasarkan uji aktivitas PGPR antara lain uji aktivitas produksi hormon IAA, penambat N, pelarut P, pelarut K, produksi ACC deaminase, produksi siderofor, produksi enzim protease, aktivitas selulolitik, dan aktivitas ligninolitik sebagai deteksi awal isolat-isolat PGPR potensial dari perakaran kelapa sawit yang dapat dijadikan sebagai kandidat agens pupuk organik hidup untuk meningkatkan kualitas dan kantitas panen tanpa berdampak negatif terhadap lingkungan dan nantinya mampu menjadi komponen pendukung pertanian yang berkelanjutan

BAHAN DAN METODE

Isolasi dan Seleksi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)

Sampel perakaran yang diambil dari perkebunan kelapa sawit di Kabupaten Pulang Pisau, Palangkaraya, Kalimantan Tengah telah tersedia di laboratorium Mikrobiologi Pertanian, Pusat Penelitian Biologi, LIPI. Sebanyak 2 gram sampel akar dimasukkan ke dalam larutan aquades steril 18 mL. Kemudian diinkubasi selama 1 jam pada kecepatan 120 rpm pada suhu 30° C. Suspensi larutan dipipet sebanyak 1 mL dan selanjutnya diencerkan ke dalam tabung reaksi berisi 9 mL aquades steril hingga pengenceran 10^{-4} . Sebanyak 20 μ L suspensi larutan pengenceran 10^{-3} dan 10^{-4} kemudian diisolasi pada media *Tryptic Soy Agar* (TSA), *Skim Milk Agar* (SMA), *Nitrogen free Bromtimolblue* (NFb), dan *Ashby*. Sebanayak 20 μ L suspensi larutan pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} diisolasi pada media *Pikovskaya* (PK) dan *Alexandrov* dengan metode *spread plate*. Isolat yang telah didapat kemudian dimurnikan pada media *Natrium Agar* (NA) dengan metode *quadran streak plate*.

Uji Aktivitas PGPR penghasil hormon Indole Acetic acid (IAA)

Uji aktivitas PGPR dalam memproduksi hormon tumbuh IAA dapat dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif dengan metode kolorimetri menggunakan reagen *Salkowski* (Gravel *et al.*, 2007). Isolat bakteri yang telah

murni di inoculasikan pada media TSA + L-triptofan 200 ppm dengan metode *streak*, dan diinkubasi selama 72 jam. Kemudian ditetesi reagen *Salkowski* dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Perubahan warna yang terjadi kemudian diamati, hasil positif ditandai dengan perubahan warna isolat menjadi merah muda

Uji kuantitatif produksi IAA dilakukan menggunakan metode spektrofotometri. Isolat diinokulasikan pada 30 mL TSB + 200 ppm L-triptofan. Produksi IAA isolat diukur pada waktu inkubasi 0, 24, 48, dan 72 jam. Isolat diambil 1 mL kemudian di sentrifugasi pada kecepatan 12000 rpm selama 10 menit, kemudian 0,5 mL supernatan dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 mL reagen *Salkowski* serta di-vortex. Setelah diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap, larutan dianalisis dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 530 nm. Panjang gelombang ini dipilih berdasarkan warna yang dihasilkan oleh interaksi antara reagen *salkowski* dan IAA. Konsentrasi IAA dihitung berdasarkan kurva standar IAA. (Ratnaningsih, 2018).

Karakterisasi Bakteri Pelarut Fosfat

Isolat bakteri diinokulasikan dengan metode titik pada cawan petri berisi media *Pikovskaya* (PK), kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Hasil positif ditandai dengan adanya zona bening disekitar isolat. Indeks pelarutan fosfat dihitung berdasarkan pengukuran rasio diameter total (koloni + zona bening) dibagi diameter koloni (Sitepu *et al.*, 2009).

Karakterisasi Bakteri Penambat Nitrogen

Uji Kualitatif bakteri penambat N dilakukan dengan media *Nitrogen free Bromotimolblue* (NFB) Solid. Isolat diinokulasikan pada media NFB berdasarkan metode Baldani *et al.* (2014) dan diinkubasi selama 7 hari pada 30°C. Hasil positif ditandai dengan adanya perubahan warna media dari hijau menjadi biru.

Karakterisasi Bakteri Penghasil Siderofor

Isolat potensial yang terpilih diinokulasikan pada media *Chrom Azurol Sulfate* (CAS) agar dengan metode titik secara aseptis, kemudian diinkubasi selama 5 hari pada suhu 30°C. Isolat yang menghasilkan siderofor ditandai dengan adanya warna orange disekitar koloni yang tumbuh (Louden *et al.*, 2011). Indeks zona siderofor dihitung berdasarkan rumus diameter zona bening / diameter koloni.

Karakterisasi Aktivitas Enzimatis ACC Deaminase

Uji aktifitas enzimatis ACC Deaminase dilakukan secara kualitatif dengan modifikasi

metode (Penrose & Glick, 2003). Isolat diinokulasikan secara *streak* pada media DF + ACC 3 mM. Isolat diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Isolat yang tumbuh pada media DF + ACC menjadi indikasi adanya aktifitas enzimatis ACC Deaminase.

Karakterisasi Bakteri Pelarut Potassium (K)

Isolat diinokulasikan pada media *Alexandrov* dengan metode titik pada cawan petri secara aseptis, kemudian diinkubasi selama 7 hari pada suhu 30°C. Adanya zona bening di sekitar isolat mengindikasikan bahwa isolat tersebut mempunyai ke mampuan dalam melarutkan potassium (K). Indeks pelarut potassium diukur berdasarkan rumus SI (*Solubilization Index*), $SI = D/d$, dengan D = diameter zona bening dan d = diameter koloni (Setiawati & Mutmainnah, 2016).

Karakterisasi Bakteri Penghasil Enzim Protease

Uji kualitatif bakteri penghasil enzim protease dilakukan dengan inokulasi isolat pada media *Skim Milk Agar* (SMA) 1% dengan metode titik pada cawan petri steril. Munculnya zona bening (*clear zone*) disekitar isolat menandakan adanya aktivitas bakteri proteolitik yang mendegradasi protein. Indeks proteolitik ditentukan berdasarkan rumus diameter total zona bening / diameter koloni (Agustiyani *et al.*, 2014)

Karakterisasi Aktivitas Selulolitik

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui aktivitas selulolitik. Isolat diinokulasikan pada media *Carboxymethyl cellulose* (CMC) dengan metode titik. Setelah 3 hari inkubasi pada suhu 30°C, media ditetesi *Congo-red* 1% secara menyeluruh dan didiamkan selama 15 menit. Adanya zona degradasi di sekitar isolat menunjukkan isolat tersebut mampu menghidrolisis selulosa (Gupta *et al.*, 2012). Indeks aktivitas selulolitik dihitung berdasarkan rumus diameter zona bening / diameter koloni.

Karakterisasi Aktivitas Lignolitik

Uji aktivitas selulolitik dilakukan secara kualitatif menggunakan media Poly R-478 (0,02 %) (Risna & Suhirman, 2002) yang dimodifikasi. Isolat diinokulasikan pada tengah media Poly R-478 padat dengan metode titik selama 7 hari pada suhu 30°C. Adanya dekolorisasi di sekitar koloni isolat menunjukkan isolat mampu mendegradasi lignin.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Seleksi PGPR

Sebanyak total 100 isolat PGPR didapatkan dari isolasi terhadap 16 sampel rizosfer akar kelapa sawit pada lahan gambut kecamatan Pulang Pisau,

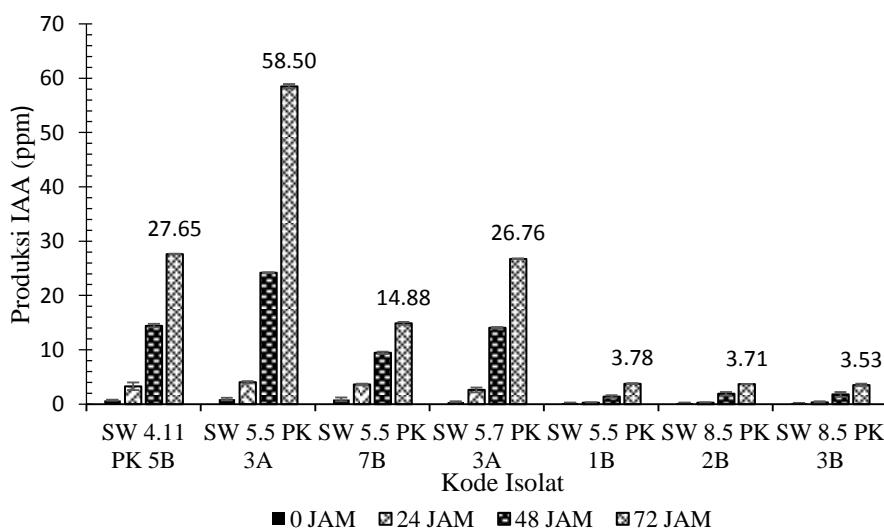
Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Isolasi PGPR dilakukan pada media selektif TSA, *Skim Milk Agar*, *Pikovskaya*, *Alexandrov*, NFB, *Ashby*, *Poly-R*, dan CMC. Isolat terbanyak didapatkan berupa bakteri pendegradasi protease pada media *Skim Milk Agar* (SMA) 1% dengan total isolat sebanyak 45 isolat, bakteri penghasil hormon tumbuh IAA pada media TSA+L-triptopfan 200 ppm dengan total 20 isolat, kemudian 22 isolat penambat nitrogen pada media NFB sebanyak 11 isolat dan 11 isolat lainnya pada media *Ashby*, isolat pelarut fosfat pada media *Pikovskaya* (PK) dengan total 4 isolat, kemudian 6 isolat bakteri ligninolitik pada media *Poly-R*, dan 3 isolat bakteri selulolitik pada media CMC, sedangkan pada media *Alexandrov* tidak didapatkan isolat sama sekali.

Dari 100 isolat PGPR yang berhasil diisolasi dari perakaran kelapa sawit pada lahan gambut, terseleksi 17 isolat PGPR didasarkan pada kesamaan morfologi dan tingkat kemampuan aktivitas berdasarkan media isolasi awal, yang selanjutnya dilihat kemampuan multi aktivitasnya (Tabel 1). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) adalah berbagai kelompok bakteri tanah yang berasosiasi dengan perakaran tanaman dan mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman dengan menstimulasi pengambilan sumber nutrisi oleh tanaman dengan berbagai aktivitasnya antara

lain, penghasil hormon tumbuh, fiksasi nitrogen, pelarut P, produksi siderofor, dan produksi ACC deaminase serta kemampuannya dalam pertahadap terhadap serangan patogen (Bhattacharyya & Jha, 2012).

Produksi IAA

Aktivitas produksi homon tumbuh *Indole Acetic Acid* (IAA) merupakan salah satu aktivitas utama PGPR dalam mesnstimulasi dan memfasilitasi pertumbuhan tanaman (Mohite, 2013). Uji kualitatif dan kuantitatif dilakukan untuk mengetahui aktivitas produksi hormon tumbuh IAA (*Indole-3-Acetic Acid*). Berdasarkan Tabel 1 diketahui bahwa dari 17 isolat rhizobakteri yang diuji terdapat 7 isolat yang mampu menghasilkan hormon tumbuh IAA (*Indole-3-Acetic Acid*) dengan konsentrasi IAA yang dihasilkan berkisar antara 3,53 hingga 58,50 ppm yaitu isolat SW 5.5 PK 3A (58,50292 ppm), SW 4.11 PK 5B (27,65497 ppm), SW 5.7 PK 3A (26,76316 ppm), SW 5.5 PK 7B (14,87719 ppm), SW 5.5 PK 1B (3,780702 ppm), SW 8.5 PK 2B (3,707602 ppm), dan SW 8.5 PK 3B (3,532164 ppm). Semua isolat menunjukkan aktivitas produksi IAA optimal pada waktu inkubasi 72 jam (Gambar 1)



Gambar 1. Produksi IAA oleh isolat bakteri per 24 Jam

Tabel 1. Aktivitas Isolat Rhizobakteri

No.	Kode Isolat	Aktivitas Isolat								
		IAA (ppm)	Pelarut P	Fiksasi N	Siderofor	ACC Deaminase	Pelarut K	Aktivitas Proteolitik	Aktivitas Selulolitik	Aktivitas Ligninolitik
1	SW 4.11 PK 5B	27.65 ± 0.04	-	-	++	-	-	+++	-	-
2	SW 5.5 PK 3A	58.50 ± 0.41	-	-	++	-	-	+++	-	-
3	SW 5.5 PK 7B	14.88 ± 0.25	-	-	++	-	-	++	-	-
4	SW 5.7 PK 3A	26.76 ± 0.02	-	-	+++	+	-	+++	-	-
5	SW 4.10 PK 1A	TA	+++	+	++	++	++	-	-	+
6	SW 4.10 PK 2A	TA	++	+	++	++	-	-	++	-
7	SW 4.10 PK 3A	TA	++	+	++	++	-	-	++	-
8	SW 8.5 PK 1A	TA	+++	+	++++	+	-	-	-	+
9	SW 1.11 PK 1A.P	TA	-	-	++	-	-	+++	-	-
10	SW 4.10 PK 1A.P	TA	++	++	++	+	-	++	+++	-
11	SW 8.5 PK 4A.P	TA	-	+	++	-	-	++	-	-
12	SW 5.5 PK 1B	3.78 ± 0.02	++	+++	+++	++	-	-	-	+
13	SW 8.5 PK 2B	3.71 ± 0.00	++	+++	+++	++	-	-	-	+
14	SW 4.11 PK 1B	TA	++	+++	+++	++	-	+++	-	-
15	SW 8.5 PK 3B	3.53 ± 0.21	++	+++	+++	++	-	-	-	+
16	SW 4.10 PK 2B	TA	+	+	+	-	-	-	-	+
17	SW 5.5 PK 1A	TA	++	++	+	-	-	+++	++	+

Ket : Pada uji aktivitas penghasil IAA: (TA) tidak ada. Pada uji pelarut fosfat, pelarut K,dan aktivitas proteolitik: (+) memiliki Indeks $0 < x < 1$; (++) $1 < x < 3$; dan (+++) $x > 3$. Pada uji fiksasi nitrogen: (+) media berwarna biru muda; (++) media berwarna biru agak tua; (+++) media berwarna biru tua; dan (NB) belum selesai pengamatan. Pada uji aktivitas Siderofor dan aktivitas selulolitik: (+) memiliki Indeks warna zona orange $0 < x < 1$; (++) $1 < x < 3$; dan (+++) $x > 3$. Pada uji aktivitas ACC Deaminase: (+) isolat tumbuh tipis; (++) isolat tumbuh agak tebal; (+++) isolat tumbuh tebal; (-) isolat tidak tumbuh; dan (NB) belum

Uji kualitatif dan kuantitatif IAA dilakukan berdasarkan metode kolorimetri dengan penggunaan reagen Salkowski dan penambahan prekursor berupa L-triptofan 200 ppm. L-triptofan berperan sebagai prekursor. (Bharucha et al., 2013), dalam penelitiannya menunjukkan penambahan prekursor berupa L-triptofan pada media tumbuh mampu memaksimalkan produksi IAA bakteri *Pseudomonas putida* dibandingkan tanpa adanya L-triptofan. Tryptofan dikeluarkan oleh eksudat perakaran ke lingkungan kemudian dimetabolisme oleh bakteri yang mengekspresikan aktivitas sintesis hormon IAA. Mekanisme biosintesis IAA dari triptofan oleh bakteri sendiri terdiri dari 5 jalur biosintesis yaitu jalur Indole-3-Acetamide (IAM), Indole-3-Pyruvic acid (IPyA), Indole-3-Aconitrile (IAN), Tryptamine (TAM), dan tryptophan side-chain oxidase (TSO) (Li et al., 2018).

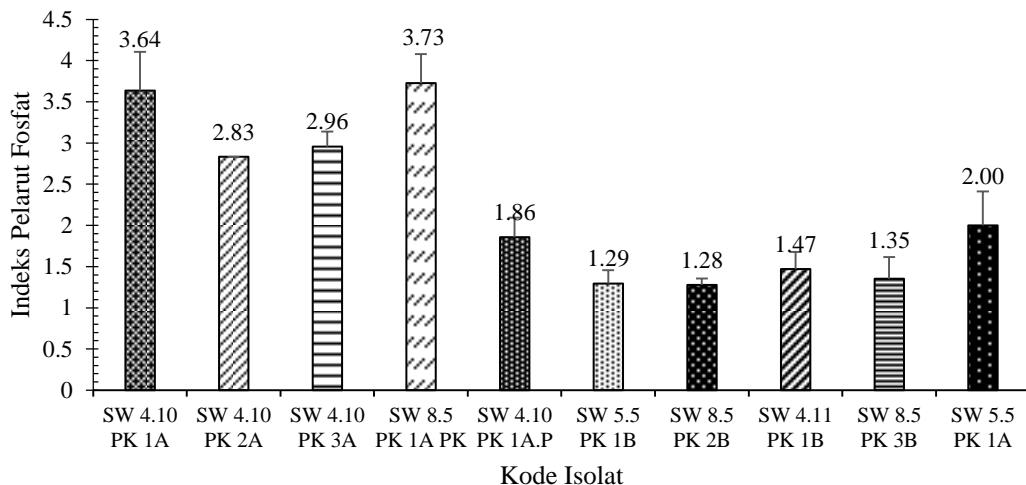
Penambahan reagen *Salkowski* sendiri mengakibatkan perubahan warna isolat menjadi merah muda ketika menghasilkan hormon IAA. Sebanyak tujuh isolat mampu menghasilkan hormon tumbuh IAA. Ketujuh isolat menunjukkan tingkat kepekatan warna merah muda yang berbeda-beda. Semakin pekat warna merah muda yang dihasilkan maka semakin tinggi konsentrasi IAAny, begitupula sebaliknya semakin pudar warna merah muda yang dihasilkan maka semakin rendah konsentrasi IAAny. Menurut (Rahman et al., 2010), perubahan warna menjadi merah terjadi karena adanya reaksi antar komponen penyusun reagen *Salkowski* yaitu FeCl_3 dan HClO_4 dengan IAA sehingga membentuk kompleks *tris(indole-3-aceto)-Fe(III)* yang berwarna merah muda hingga merah. Isolat SW 5.5 PK 3A menghasilkan perubahan warna merah muda yang paling pekat dengan nilai konsentrasi IAA 58,50 ppm. Pada penelitian (Zakry et al., 2019), didapatkan

beberapa isolat PGPR penghasil IAA dari isolasi pada perakaran kelapa sawit diantaranya yaitu, *Serratia* sp., *Pantoea ananatis*, dan *Pantoea* sp.

Aktivitas Pelarut Fosfat

Fosfat merupakan senyawa terpenting dalam pertumbuhan tanaman setelah nitrogen. Fosfat tersedia melimpah di tanah dalam bentuk fosfat organik ataupun fosfat anorganik, sebagian besar fosfat anorganik berupa mineral tidak larut sehingga tidak memungkinkan pengambilan fosfat secara langsung dari perakaran tanaman. Fosfat berperan penting dalam proses metabolisme diantaranya fotosintesis, transfer energi, sinyal tranduksi, biosintesis dan respirasi (Sharma et al., 2013). Beberapa PGPR mempunyai kemampuan dalam melerutkan fosfat sehingga dapat tersedia melimpah di tanah dan mampu diserap dengan mudah oleh akar tanaman. Biofertilizer yang mengandung PGPR pelarut fosfat di dalamnya diketahui mampu meningkatkan ketersediaan fosfat organik ataupun anorganik bagi tanaman (Vejan et al., 2016; Prasad et al., 2014).

Sebanyak 11 isolat dari 17 isolat rhizobakteri yang diuji mempunyai kemampuan dalam melerutkan fosfat, dibuktikan dengan terbentuknya zona bening pada media tumbuh *Pikovskaya* (PK) dengan indeks 1,29 hingga 3,73 (Gambar 2). Isolat SW 8.5 PK 1A dan SW 4.10 PK 1A dengan indeks zona bening lebih dari 3 (+++), kemudian 6 isolat lainnya (SW 4.10 PK 2A, SW 4.10 PK 3A, SW 5.5 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, SW 8.5 PK 3B, SW 4.11 PK 1B, dan SW 5.5 PK 1A) menunjukkan aktivitas yang yang lebih rendah dengan indeks zona bening diantara 1 hingga 3 (++) , dan isolat SW 4.10 PK 2B mempunyai aktivitas pelarut fosfat paling rendah yaitu kurang dari 1 (+) (Tabel 1).



Gambar 2. Aktivitas pelarut fosfat berdasarkan nilai indeks pelarut fosfat.

Mikroorganisme baik bakteri atau fungi melerutkan fosfat anorganik utamanya dengan produksi asam organik seperti asam glukonat ke tanah yang melerutkan bentuk fosfat komplek menjadi orto-fosfat sehingga mampu diserap dan dimanfaatkan oleh tanaman. Selain itu, bakteri mampu menyediakan P ke tanah dengan produksi H₂S, asimilasi P dari larutan, produksi H₂CO₃, produksi siderofor, produksi eksopolisikarida, jalur oksidasi langsung, dan imobilisasi(Sharma *et al.*, 2013; Liu *et al.*, 2014; Oteino *et al.*, 2015). Pada penelitian ini isolat SW 8.5 PK 1A menunjukkan indeks pelarut fosfat tertinggi yaitu 3,73 (Gambar 2). Menurut Sitepu *et al.* (2009), efisiensi kemampuan isolat dalam melerutkan fosfat diindikasikan dengan tingkat pertambahan luas zona bening dari waktu ke waktu, dengan diameter koloni yang relatif kecil yang berarti semakin lebar zona bening yang terbentuk pada koloni yang lebih kecil semakin efisien kemampuan bakteri dalam melerutkan fosfat. Dalam Zakry *et al.*, (2019), didapatkan beberapa bakteri pelarut P dari isolasi pada perakaran kelapa sawit diantaranya adalah isolat *Serratia* sp., *Bacillus* sp., dan *Pantoea* sp.

Aktivitas Fiksasi Nitrogen

Tanaman tidak mampu menyerap bentuk nitrogen bebas di udara secara langsung (N₂). Nitrogen merupakan salah satu unsur terpenting dalam pertumbuhan dan produktivitas tanaman. Oleh karena itu, fiksasi nitrogen oleh mikroorganisme dengan enzim nitrogenase mampu mengubah N₂ menjadi ammonia yang dapat diserap oleh tanaman (Gupta *et al.*, 2015). Sebanyak 11 isolat dari 17 isolat mampu merubah

warna media NFb padat dari warna hijau menjadi biru. Hal ini menandakan adanya aktivitas fiksasi nitrogen oleh isolat-isolat tersebut. Empat diantaranya berwarna biru tua (+++) yaitu isolat SW 5.5 PK 1B, SW 4.11 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, dan SW 8.5 PK 3B; dua isolat berwarna biru agak gelap (++) yaitu isolat SW PK 4.10 1A PRO dan SW 5.5 PK 1A; tujuh isolat berwarna biru muda (+) yaitu isolat SW 5.7 PK 3A, SW 4.10 PK 1A, SW 4.10 PK 2A, SW 4.10 PK 3A, SW 8.5 PK 1A, SW 8.5 PK 4A.P, dan SW 4.10 PK 2B (Tabel 1).

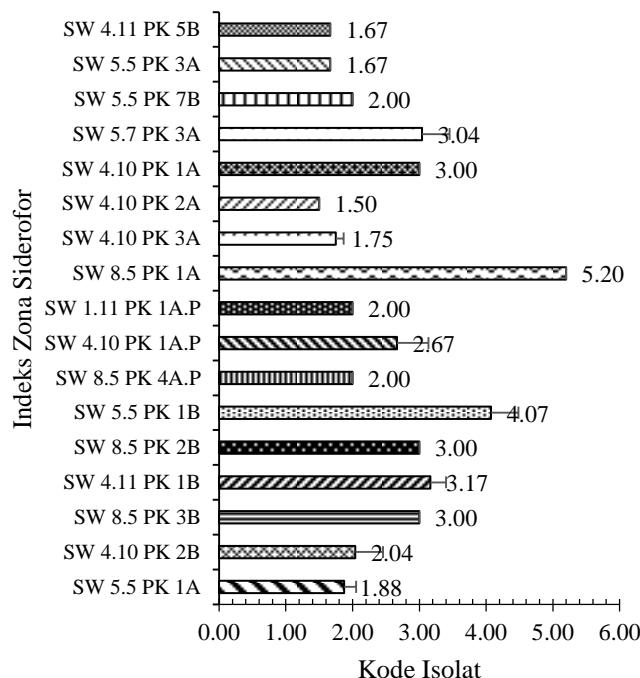
Media NFb (*Nitrogen-free Bromthymol Blue*) merupakan media tumbuh yang tidak dilengkapi dengan sumber N. Salah satu komponen penyusun media NFb adalah *bromthymol blue* yang berperan sebagai indikator pH. Tumbuhnya isolat disertai dengan perubahan warna media menjadi biru merupakan indikasi bahwa isolat tersebut mampu menambat nitrogen dari udara, sehingga lingkungan sekitar bersifat lebih alkali yang ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan hingga biru. Hal ini sesuai dengan penelitian (Hingole & Pathak, 2016), dimana isolat bakteri penambat non simbiotik (diozotrof), yang ditumbuhkan pada media NFb akan mengakibatkan warna media disekitar isolat berubah menjadi biru, disertai dengan adanya kenaikan pH. Isolat SW 5.5 PK 1B, SW 4.11 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, dan SW 8.5 PK 3B mempunyai aktivitas penambatan nitrogogen tertinggi dengan perubahan warna menjadi biru tua (+++). Dalam Azlin *et al.* (2005), beberapa isolat penambat N non-simbiotik didapatkan dari isolasi bakteri pada perakaran kelapa sawit diantaranya

adalah *H. seropedicae*, *A. diazotrophicus*, dan *P. polymixa*.

Penghasil Siderofor

Uji kualitatif pada media CAS agar dilakukan untuk melihat adanya isolat penghasil senyawa siderofor. Menurut Sasirekha & Srividya (2016), siderofor atau penghelat besi merupakan komponen yang disekresi oleh bakteri ketika keadaan stres dimana lingkungan atau tanah minim akan zat besi (Fe). Ketujuh belas isolat menunjukkan adanya kemampuan dalam

menghasilkan senyawa siderofor, ditandai dengan daerah diantara isolat berubah warna menjadi oren. Satu isolat menghasilkan zona penghelatan, dengan indeks lebih dari 5 yaitu isolat SW 8.5 PK 1A. Empat isolat mempunyai indeks zona diantara 3 hingga 5 yaitu isolat SW 5.5 PK 1B, SW 4.11 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, dan SW 8.5 PK 3B, sedangkan 12 isolat mempunyai indek zona siderofor diantara 1 hingga 3



Gambar 3. Aktivitas penghelat Fe (produksi siderofor) berdasarkan indeks zona siderofor

Tanaman tidak mampu menghelat besi secara langsung dari tanah karena kelarutan Fe^{3+} yang rendah sebab terendap di dalam tanah dalam bentuk oksida atau hidroksida. Siderofor yang disekresi oleh bakteri dalam bentuk hidroksimat dan catecholate mampu menghelat Fe tidak larut menjadi larut melalui mekanisme mineralisasi dan skuestrasi sehingga mampu menjadikannya tersedia bagi pertumbuhan dan perkembangan tanaman (Pahari *et al.*, 2017). Isolat SW 8.5 PK 1A menunjukkan indeks zona paling tinggi yaitu 5,20 (Gambar 3). Adanya perubahan warna di sekeliling dari biru menjadi oren pada media CAS agar menunjukkan adanya aktivitas produksi siderofor. CAS yang menghelat Fe mengakibatkan media berwarna biru, adanya penambahan penghelat Fe kuat seperti siderofor mampu mengikat besi dari pewarna (*blue dye*) yang

mengandung *hexadecyltrimethylammonium bromide* (HDTMA) sehingga warna berubah dari biru menjadi oren (Louden *et al.*, 2011). Telah dilaporkan bahwa isolat *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari perakaran kelapa sawit diketahui mampu memproduksi siderofor (Tan *et al.*, 2014).

Aktivitas Enzimatis ACC Deaminase

Aktivitas enzimatis ACC Deaminase merupakan salah satu aktivitas enzimatis yang memungkinkan pertahanan pada kondisi tercekam. Asam amino siklopropanoid *1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid* merupakan prekursor dari etilen. Konsentrasi ACC meningkat dalam kondisi lingkungan yang tercekam (Glick, 2014). Etilen dibutuhkan oleh tanaman dalam jumlah yang relatif sedikit, dimana sintesis etilen yang berlebih mampu menghambat pertumbuhan tanaman (Iqbal *et al.*, 2017). Enzim ACC

deaminase berperan dalam mendegradasi ACC menjadi α -ketobutirat dan ammonia. ACC dikeluarkan dari biji atau akar tanaman dan kemudian dimetabolisme oleh bakteri yang mengekspresikan aktivitas ACC deaminase, yang merangsang penurunan konsentrasi ACC sehingga terjadi penurunan etilen (Onofre-Lemus *et al.*, 2009; Glick, 2014). Isolat mampu tumbuh pada media DF + ACC karena mampu menggunakan ACC (*1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid*) sebagai sumber N. Dalam Gupta & Pandey (2019), media minim DF (Dworkin Foster) dengan penambahan 3 mM ACC digunakan untuk uji kualitatif aktivitas ACC deaminase, dimana ACC berperan sebagai sumber N Berdasarkan uji kualitatif ACC Deaminase, diketahui bahwa sebanyak 10 isolat rhizobakteri mempunyai aktivitas enzimatis ACC deaminase, tujuh diantaranya tumbuh agak tebal (++) pada media DF + ACC yaitu isolat SW 4.10 PK 1A, SW 4.10 PK 2A K, SW 4.10 PK 3A, SW 5.5 PK 1B, SW 4.11 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, dan SW 8.5 PK 3B. Sedangkan 3 lainnya tumbuh tipis (+) pada media DF + ACC yaitu isolat SW 5.5 PK 3A, SW 4.10 PK 1A.P, dan SW 8.5 PK 1A (Tabel 1). Telah dilaporkan bahwa beberapa bakteri penghasil ACC deaminase meningkatkan pertumbuhan tanaman dalam berbagai kondisi stres, seperti cekaman garam dan cekaman kekeringan (Gupta & Pandey, 2019; Danish *et al.*, 2020).

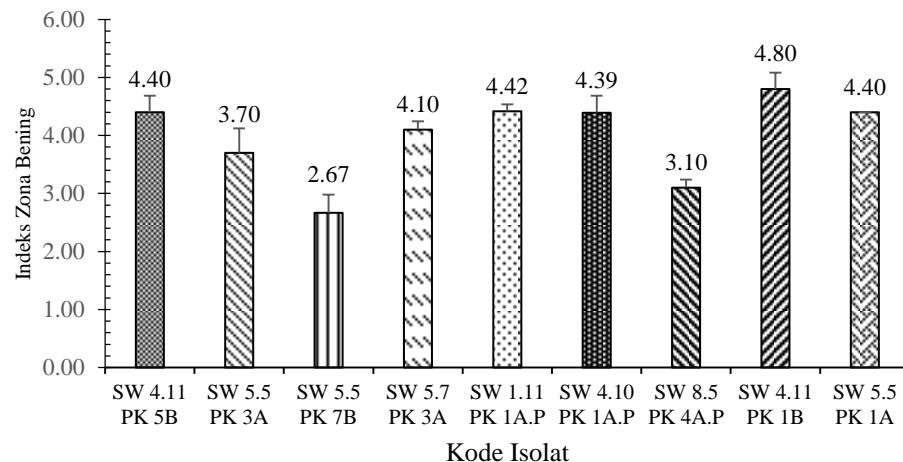
Aktivitas Pelarut K

Bakteri pelarut K merupakan bakteri yang mampu melarutkan unsur K tidak larut dalam tanah. Menurut Etesami *et al.* (2017), Bakteri pelarut K adalah bakteri yang memiliki kemampuan dalam melarutkan mineral pembawa K dan K tidak larut menjadi K larut sehingga mampu diserap oleh tanaman untuk mendukung pertumbuhannya. Bakteri pelarut K diketahui

mempunyai beberapa mekanisme dalam melarutkan K dalam bentuk K^+ dari mineral pembawa K, diantaranya dengan pelepasan H^+ yang secara perlahan juga melarutkan unsur K tak tersedia menjadi K tersedia, dengan produksi asam organik/anorganik, dan dengan mekanisme asidolisis. Dari 17 isolat diketahui bahwa isolat SW 4.10 PK 1A merupakan satu-satunya isolat yang mampu menghasilkan zona bening pada media *Alexandrov* dengan indeks pelarutan 3,158 (data tidak ditampilkan) karena adanya pelarutan komponen feldspar yang merupakan sumber K tidak larut. Dalam Meena *et al.* (2016) Beberapa sumber K dapat digunakan untuk screening bakteri pelarut K diantaranya kalium-feldspar, magnesium trisilikat tak larut, muskovit, bubuk ilit, montmorilonit, kaolinit, biotit, limbah mika, bentonit, abu kayu, dan kalium alumunium silikat. Beberapa isolat yang diisolasi dari perakaran kelapa sawit mempunyai aktivitas pelarut K diantaranya adalah *Serratia* sp., *Bacillus* sp. dan *Pantoea ananitis* (Zakry *et al.*, 2019).

Aktivitas Proteolitik

Aktivitas proteolitik oleh PGPR menjadi salah satu mekanisme pertahanan terhadap serangan patogen tanaman. Protease merupakan salah satu enzim hidrolisis yang berperan dalam hidrolisis dinding sel patogen tanaman yang sebagian besar terdiri atas polisakarida (Jadhav *et al.*, 2017). Sebanyak sembilan isolat dari 17 isolat rhizobakteri yang diuji diketahui mempunyai aktivitas proteolitik. Delapan diantaranya memiliki indeks zona bening lebih dari 3 yaitu isolat SW 4.11 PK 5B, SW 5.5 PK 3A, SW 5.7 PK 3A, SW 1.11 PK 1A.P, SW 4.10 PK 1A.P, SW 8.5 PK 4A.P, SW 4.11 PK 1B, dan SW 5.5 PK 1A. Indeks zona bening kesembilan isolat tersebut terdiri dari 2,67 hingga 4,80 (Gambar 4).



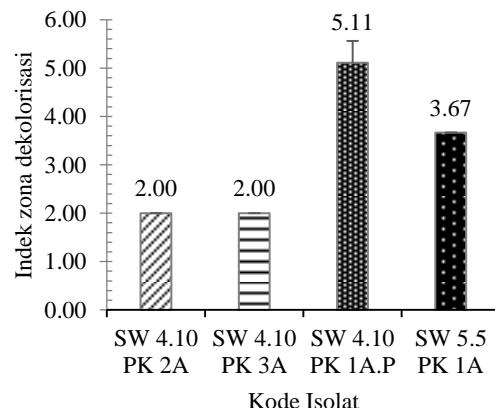
Gambar 4. Aktivitas proteolitik bakteri berdasarkan nilai indeks zona bening

Uji kualitatif aktivitas proteolitik dilakukan pada media *Skim Milk Agar* (SMA) 1%. Isolat yang mempunyai aktivitas proteolitik diindikasikan dengan adanya zona bening disekitar koloni. Bakteri proteolitik mampu menghidrolisis kasein dari susu skim sebagai sumber N, oleh karena itu zona bening disekitar isolat terbentuk. Menurut (Sevinc & Demirkan, 2011), hidrolisis protein oleh bakteri mampu ditunjukkan secara kualitatif dengan media *skim milk agar* (SMA) 1% dengan terbentuknya zona bening. Penggunaan susu skim sebagai sumber nitrogen organik lebih baik daripada penggunaan sumber nitrogen anorganik. Isolat SW 4.11 PK 1B mempunyai indeks proteolitik yaitu 4,80 Beberapa bakteri dari genus tertentu diketahui mempunyai aktivitas proteolitik antara lain *Bacillus*, *Micrococcus*, dan *Bulkholderia* (Sevinc & Demirkan, 2011; Prakash et al., 2017; Gingues et al., 2005). Dalam penelitian (Rais et al., 2017), *Bacillus spp.* memproduksi enzim protease dan mampu menjadi agens biokontrol terhadap serangan *Pyricularia oryzae* pada tanaman padi.

Aktivitas Selulolitik

Bakteri selulolitik atau bakteri penghasil enzim selulase berperan penting sebagai agens dekomposer. Ketersediaan selulase oleh mikroorganisme ditanah mampu meningkatkan proses dekomposisi tumbuhan sehingga mampu meningkatkan kesuburan tanah yang berdampak positif terhadap pertumbuhan tanaman (Phitsuwan et al., 2013). Koloni yang mampu mengakibatkan hilangnya warna (dekolorisasi) pewarna *Congo red* mengindikasikan aktivitas degradasi selulosa oleh mikroba tersebut. Sebanyak empat isolat rhizobakteri diketahui mampu menghasilkan

enzim selulase, yaitu isolat SW 4.10 PK 2A, SW 4.10 PK 3A, SW 4.10 PK 1.A.P, dan SW 5.5 PK 1A dengan indeks 2,00 hingga 5,11.



Gambar 5. Aktivitas selulolitik berdasarkan indeks zona dekolorisasi

Enzim selulase terdiri dari tiga kelas enzim ekstraseluler terlarut, yaitu: 1, 4- β -endoglucanase, 1, 4- β -exoglucanase, dan β -glukosidase (β -D-glukosida glukohidrolase atau selobiase). Sinergi dari tiga enzim tersebut yang memungkinkan hidrolisis selulosa menjadi glukosa atau mineralisasi menyeluruh menjadi H_2O dan CO_2 (Gupta et al., 2012). Aktivitas selulolitik isolat PGPR dilihat berdasarkan uji kulatif pada media *Carboxyl methyl Celulose* (CMC). Pada penelitian ini isolat SW 4.10 PK 1.A.P memiliki indek tertinggi yaitu 5,11. Dalam penelitian Tan et al. (2014), isolat *Bacillus subtilis* yang diisolasi dari perakaran kelapa sawit diketahui mampu memproduksi selulase. Telah dilaporkan dalam penelitian Tang et al. (2018), bahwa

pengaplikasian bakteri selulolitik seperti isolat *Serratia marcescens* mampu berdampak positif terhadap kekuatan semai dalam penyemaian kacang hijau.

Aktivitas Ligninolitik

Bakteri ligninolitik atau bakteri pendegradasi lignin berperan penting menjadi agens dekomposer dalam degradasi sisa tumbuhan khususnya tumbuhan berkayu (Janusz *et al.*, 2017). Aktivitas ligninolitik menandakan adanya aktivitas degradasi lignin oleh mikroba. Aktivitas ligninolitik mikroorganisme dapat diketahui dengan seleksi awal pada beberapa media salah satunya media Poly R-478. Dekolorisasi pewarna Poly R-478 di sekitar isolat menunjukkan adanya aktivitas ligninolitik. Pewarna Poly R-478 merupakan indikator ligninolitik poliaromatik dikarenakan pewarna ini memiliki strukur yang mirip dengan lignin (Urairuj *et al.*, 2003; Moreira *et al.*, 2004). Indikasi positif ditunjukkan dengan adanya aktivitas dekolorisasi pewarna Poly R-478 di sekitar koloni isolat. Sebanyak 7 isolat dari 17 isolat rhizobakteri yang diuji diketahui mempunyai aktivitas degradasi lignin yaitu isolat SW 4.10 PK 1A, SW 8.5 PK 1A, SW 5.5 PK 1B, SW 8.5 PK 2B, SW 8.5 PK 3B, dan SW 4.10 PK 2B Poly R (Tabel 1). Menurut Kumar & Chandra (2020), enzim ligninolitik berperan penting dalam degradasi lignoselulosa di lingkungan. Enzim Enzim ligninolitik utama antara lain lignin peroksidase, lakase, mangan peroksidase, & *versatile peroxidase*.

KESIMPULAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pada perakaran kelapa sawit di lahan gambut terdapat isolat-isolat PGPR dengan berbagai aktivitas pemacu pertumbuhan tanaman. Berdasarkan penelitian didapat beberapa isolat potensial yang mampu dijadikan sebagai kandidat agens pupuk organik hidup yaitu isolat SW 5.5 PK 3A, isolat 8.5 PK 1A, isolat SW 4.10 PK 3A, isolat SW 4.11 PK, dan isolat SW 4.10 PK 1A.P karena aktivitasnya yang lebih tinggi dibandingkan dengan isolat lain. Pengembangan lebih lanjut terhadap formulasi konsorsia isolat-isolat tersebut serta uji pengaplikasianya pada tanaman pertanian dapat dijadikan sebagai bahan penelitian lanjutan untuk mengetahui pengaruh pengaplikasian isolat PGPR dari perakaran kelapa sawit pada pertumbuhan dan perkembangan tanaman pertanian.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada kepala dan staf laboratorium bidang mikrobiologi

pertanian atas bantuan dan dukungannya selama penelitian. Terimakasih kepada Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) selaku penyedia fasilitas penelitian. Penelitian ini dapat terlaksana berkat pendanaan dari Badan Restorasi Gambut (BRG).

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiyani, D., Nditasari, A., Laili, N., & Antonius, S. 2014. Penapisan dan Identifikasi Bakteri Agens Biokontrol Penyakit Layu Fusarium Hasil Isolasi dari Rizosfer Pisang. *Jurnal Fitopatologi Indonesia*. 10(1): 23–30.
- Azlin, C. O., Amir, H. G., & Chan, L. K. 2005. Isolation and Characterization of Diazotrophic Rhizobacteria of Oil Palm Roots. *Malaysian Journal of Microbiology*, June 2005.
- Baldani, J. I., Reis, V. M., Videira, S. S., Boddey, L. H., & Baldani, V. L. D. 2014. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*. 384(1–2): 413–431.
- Bharucha, U., Patel, K., & Trivedi, U. B. 2013. Optimization of Indole Acetic Acid Production by *Pseudomonas putida* UB1 and its Effect as Plant Growth-Promoting Rhizobacteria on Mustard (*Brassica nigra*). *Agricultural Research*. 2(3): 215–221.
- Bhattacharyya, P. N., & Jha, D. K. 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28(4): 1327–1350.
- Danish, S., Zafar-Ul-Hye, M., Mohsin, F., & Hussain, M. 2020. ACC-deaminase producing plant growth promoting rhizobacteria and biochar mitigate adverse effects of drought stress on maize growth. *PLoS ONE*. 15(4): 1–14.
- Etesami, H., Emami, S., & Alikhani, H. A. 2017. Potassium solubilizing bacteria (KSB): Mechanisms, promotion of plant growth, and future prospects - a review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 17(4): 897–911.
- Gingues, S., Kooi, C., Visser, M. B., Subsin, B., & Sokol, P. A. 2005. Distribution and expression of the ZmpA metalloprotease in the *Burkholderia cepacia* complex. *Journal of Bacteriology*. 187(24): 8247–8255.
- Glick, B. R. 2014. Bacteria with ACC deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*. 169(1): 30–39.

- Gravel, V., Antoun, H., & Tweddell, R. J. 2007. Effect of indole-acetic acid (IAA) on the development of symptoms caused by *Pythium ultimum* on tomato plants. *European Journal of Plant Pathology*. 119(4): 457–462.
- Gupta, P., Samant, K., & Sahu, A. 2012. Isolation of cellulose-degrading bacteria and determination of their cellulolytic potential. *International Journal of Microbiology*.
- Gupta, G., Parihar, S.S., Ahirwar, N.K., Snehi, S.K., & Singh, V. 2015. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR): Current and Future Prospects for Development of Sustainable Agriculture. *Journal of Microbial & Biochemical Technology*. 07(02): 96–102.
- Gupta, S., & Pandey, S. 2019. ACC deaminase producing bacteria with multifarious plant growth promoting traits alleviates salinity stress in French Bean (*Phaseolus vulgaris*) plants. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1–17.
- Iqbal, N., Khan, N. A., Ferrante, A., Trivellini, A., Francini, A., & Khan, M. I. R. 2017. Ethylene role in plant growth, development and senescence: interaction with other phytohormones. *Frontiers in Plant Science*. 8: 1–19.
- Jadhav, H., Shaikh, S. S., & Sayyed, R. Z. 2017. Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation. *Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation*, August.
- Janusz, G., Pawlik, A., Sulej, J., Świderska-Burek, U., Jarosz-Wilkolazka, A., & Paszczyński, A. 2017. Lignin degradation: Microorganisms, enzymes involved, genomes analysis and evolution. *FEMS Microbiology Reviews*. 41(6): 941–962.
- Kalam, S., Das, S. N., Basu, A., & Podile, A. R. 2017. Population densities of indigenous Acidobacteria change in the presence of plant growth promoting rhizobacteria (PGPR) in rhizosphere. *Journal of Basic Microbiology*. 57(5): 376–385.
- Kumar, A., & Chandra, R. 2020. Ligninolytic enzymes and its mechanisms for degradation of lignocellulosic waste in environment. *Heliyon*. 6(2): e03170.
- Li, M., Guo, R., Yu, F., Chen, X., Zhao, H., Li, H., & Wu, J. 2018. Indole-3-acetic acid biosynthesis pathways in the plant-beneficial bacterium *arthrobacter pascens* zz21. *International Journal of Molecular Sciences*. 19(2).
- Liu, F. P., Liu, H. Q., Zhou, H. L., Dong, Z. G., Bai, X. H., Bai, P., & Qiao, J. J. 2014. Isolation and characterization of phosphate-solubilizing bacteria from betel nut (*Areca catechu*) and their effects on plant growth and phosphorus mobilization in tropical soils. *Biology and Fertility of Soils*. 50(6), 927–937.
- Louden, B. C., Haarmann, D., & Lynne, A. M.. 2011. Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection. *Journal of Microbiology & Biology Education*. 12(1): 51–53.
- Meena, V.S., Maurya, B.R., Verma, J.P., Meena, R.S. 2016. Potassium solubilizing microorganisms for sustainable agriculture. *Springer*.
- Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 13(3): 638–649.
- Moreira, M. T., Viacava, C., & Vidal, G. 2004. Fed-batch decolorization of poly R-478 by *Trametes versicolor*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*. 47(2): 179–183.
- Ohiwal, M., Widayastuti, R., & Sabiham, S. 2017. Populasi Mikrob Fungsional Pada Rhizosfer Kelapa Sawit Di Lahan Gambut Riau. *Jurnal Ilmu Tanah Dan Lingkungan*. 19(2): 74–80.
- Onofre-Lemus, J., Hernández-Lucas, I., Girard, L., & Caballero-Mellado, J. 2009. ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylate) deaminase activity, a widespread trait in *Burkholderia* species, and its growth-promoting effect on tomato plants. *Applied and Environmental Microbiology*. 75(20): 6581–6590.
- Oteino, N., Lally, R. D., Kiwanuka, S., Lloyd, A., Ryan, D., Germaine, K. J., & Dowling, D. N. (2015). Plant growth promotion induced by phosphate solubilizing endophytic *Pseudomonas* isolates. *Frontiers in Microbiology*. 6: 1–9.
- Pahari, A., Pradhan, A., Nayak, S.K., Mishra, & B.B. 2017. Bacterial siderophore as a plant growth promoter. *Microbial Biotechnology*. 7: 163–180.
- Penrose, D. M., & Glick, B. R. 2003 Methods for isolating and characterizing ACC deaminase-containing plant growth-promoting rhizobacteria. *Physiologia Plantarum*: 118(1): 10–15.
- Phitsuwan, P., Laohakunjit, N., Kerdchoechuen, O., Kyu, K. L., & Ratanakhanokchai, K. 2013. Present and potential applications of cellulases in agriculture, biotechnology, and

- bioenergy. *Folia Microbiologica*. 58(2): 163–176.
- Prakash, O., Nimonkar, Y., Chavadar, M. S., Bharti, N., Pawar, S., Sharma, A., & Shouche, Y. S. 2017. Optimization of nutrients and culture conditions for alkaline protease production using two endophytic Micrococci: *Micrococcus aloeverae* and *Micrococcus yunnanensis*. *Indian Journal of Microbiology*, 57(2), 218–225.
- Prasad, R., Kumar, M., & Varma, A. 2014. Role of pgpr in soil fertility and plant health. *Springer International Publishing Switzerland*.
- Pratiwi, E., Satwika, T. D., & Agus, F. 2018. Keanekaragaman Mikroba Tanah Gambut di Bawah Hutan dan di Bawah Perkebunan Sawit di Provinsi Jambi Microbial Diversity in Peat under Forest and under Oil Palm Plantation in Jambi Province. *Jurnal Tanah Dan Iklim*. 42(1): 69–78.
- Rahman, A., Sitepu, I. R., Tang, S. Y., & Hashidoko, Y. 2010. Salkowski's reagent test as a primary screening index for functionalities of rhizobacteria isolated from wild dipterocarp saplings growing naturally on medium-strongly acidic tropical peat soil. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 74(11): 2202–2208.
- Rais, A., Jabeen, Z., Shair, F., Hafeez, F. Y., & Hassan, M. N. 2017. *Bacillus* spp., a bio-control agent enhances the activity of antioxidant defense enzymes in rice against *Pyricularia oryzae*. *PLoS ONE*. 12(11). 1–17.
- Ratnaningsih, H.R. 2018. Rhizobateria Penghasil IAA Dan ACC Deaminase Asal Tanaman Nanas dan Perannya dalam Memacu Pertumbuhan Tanaman [Tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana IPB
- Risna, R. A., & Suhirman. 2002. Ligninolytic enzyme production by Polyporaceae from Lombok, Indonesia. *Fungal Diversity*. 9: 123–134.
- Setiawati, T. C., & Mutmainnah, L. 2016. Solubilization of Potassium Containing Mineral by Microorganisms From Sugarcane Rhizosphere. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*. 9: 108–117.
- Sevinc, N., & Demirkhan, E. 2011. Production of Protease by *Bacillus* sp. N-40 Isolated from Soil and Its Enzymatic Properties. *J. Biol. Environ. Sci.* 5(14): 95–103.
- Sharma, S. B., Sayyed, R. Z., Trivedi, M. H., & Gobi, T. A. 2013. Phosphate solubilizing microbes: Sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpringerPlus*. 2(1): 1–14.
- Sitepu, I. R., Hashidoko, Y., Santoso, E., & Tahara, S. 2009. Growth-promoting properties of bacteria isolated from rhizosphere and rhizoplane of dipterocarp plants on acidic lowland tropical peat forest in central kalimantan, indonesia. In *Indonesian Journal of Forestry Research*. 6(2): 96–118.
- Tan, K. Z., Radziah, O., Halimi, M. S., Khairuddin, A. R., Habib, S. H., & Shamsuddin, Z. H. 2014. Isolation and characterization of rhizobia and plant growth-promoting rhizobacteria and their effects on growth of rice seedlings. *American Journal of Agricultural and Biological Science*. 9(3): 342–360.
- Tang, A., Haruna, A. O., & Majid, N. M. A. 2018. Potential PGPR properties of cellulolytic, nitrogen-fixing, and phosphate-solubilizing bacteria of a rehabilitated tropical forest soil. *BioRxiv*. 1–22.
- Umair, M., Muhammad, I.-H., Muhammad, S., Adeela, A., Farooq, A., & Sikandar, H. 2018. A brief review on plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a key role in plant growth promotion. *Plant Protection*. 2(2): 77–82.
- Urairuj, C., Khanongnuch, C., & Lumyong, S. 2003. Ligninolytic enzymes from tropical endophytic Xylariaceae. *Fungal Diversity*. 13: 209–219.
- Vejan, P., Abdullah, R., Khadiran, T., Ismail, S., & Nasrulhaq Boyce, A. 2016. Role of plant growth promoting rhizobacteria in agricultural sustainability-A review. *Molecules*. 21(5): 1–17.
- Zaidi, A., Khan, M. S., & Musarrat, J. 2009. Microbial strategies for crop improvement. *Microbial Strategies for Crop Improvement*. 1–358.
- Zakry, F., Ammal, P., Malahubban, M., Faridah, A. R., & Umar, A. H. M. 2019. Selecting the most effective plant growth-promoting bacteria from oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq) roots. *Journal of the Bangladesh Agricultural University*. 17(3): 344–348.
- Zhou, D., Huang, X. F., Chaparro, J. M., Badri, D. V., Manter, D. K., Vivanco, J. M., & Guo, J. 2016. Root and bacterial secretions regulate the interaction between plants and PGPR leading to distinct plant growth promotion effects. *Plant and Soil*. 401(1–2): 259–272.

