

# EVALUASI KEMURNIAN GENETIK DENGAN MARKA MIKROSATELIT DAN APLIKASI RIZOBACTERIA UNTUK MENINGKATKAN PRODUKSI DAN MUTU BENIH JAGUNG HIBRIDA

## (EVALUATION OF GENETIC PURITY USING MICROSATELLITE MARKERS AND APPLICATION OF RHIZOBACTERIA TO INCREASE THE PRODUCTION AND SEED QUALITY OF MAIZE HYBRID)

Memen Surahman<sup>1,\*</sup>, Giyanto<sup>2</sup>, Andi Takdir<sup>3</sup>, Awaludin Hipi<sup>1</sup>

### ABSTRACT

One effort to improve of high-quality of maize seed were the development and application of methods for genetic quality testing, such as SSR marker. Another effort was used of rhizobacteria for increased the availability of nutrients, especially P in the soil. The aim of this study were: 1) Microsatellite markers specific to male and female parents of maize hybrid; 2) Seed genetic purity by using molecular marker; 3) Rhizobacteria that could increase the physiological quality of maize hybrid seed; and 4) Rhizobacteria that could increase the growth of plant and efficiency of fertilizer P. The result showed that: 1) From five markers tested, three markers namely *phi96100*, *phi328175* and *phi072* produced polymorphic bands and capable to distinguish parental lines of two maize hybrids. Microsatellite marker *phi96100* was specific used for testing genetic purity of *cv.*Bima-4 and *phi072* for *cv.*Bima-3. While *phi328175* was specific markers to both hybrids maize. The test of *cv.* Bima-3 and Bima-4 indicated that genetic purity of both varieties were 97.5% and 80% respectively; 2) Isolates B28 and B46 could increase IV 19% and 22% respectively, and had a high speed of growth compared controls; 3). Isolates B46, B42, B13, P14, P31, AB2, AB3, AB11, ATS4, and ATS5 could increased of germination compared to control; 4) Treatment of rhizobacteri significantly affects on plant height 2, 4 and 6 week after planting (WAP); 5) P fertilizer dosage were not significantly influenced on the number of leaves at 2 and 4 WAP, but significant at 6 WAP. Isolate of B28, B42 and ATS4 were potential for increased of plant growth.

**Keywords:** Genetic purity, physiological quality, rhizobacteria, phosphate efficiency, seed of maize hybrid.

### ABSTRAK

Salah satu upaya untuk meningkatkan produksi dan produktivitas jagung adalah melalui penggunaan benih jagung bermutu tinggi. Dalam rangka pengawasan mutu benih dapat dilakukan dengan pengembangan dan penerapan metode pengujian kualitas genetik seperti penggunaan marka mikrosatelit. Selain itu yang diharapkan untuk berkontribusi untuk meningkatkan produksi dan produktivitas jagung hibrida adalah penggunaan rizobacteria. Peran mikroba ini adalah untuk meningkatkan ketersediaan nutrisi, terutama P dalam tanah. Penggunaan bakteri pelarut fosfat seperti *Pseudomonas spp* dan *Bacillus spp.*, dapat melarutkan fosfat yang sulit larut menjadi bentuk tersedia bagi tanaman. Tujuan dari penelitian ini adalah: 1) mendapatkan marka mikrosatelit yang spesifik untuk tetua jantan dan betina jagung hibrida Bima-3 dan Bima-4; 2) mengevaluasi kemurnian genetik benih jagung hibrida dengan menggunakan marka mikrosatelit; 3) mendapatkan rizobakteri yang dapat meningkatkan mutu fisiologis benih jagung hibrida; dan 4) mengetahui efektivitas rizobakteri untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman serta mengurangi penggunaan pupuk P anorganik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa: 1) Dari 5 primer yang diuji, 3 diantaranya menghasilkan pita polimorfis yaitu *phi96100*, *phi328175* dan *phi072*. Primer *phi072* spesifik untuk tetua Bima-3, primer *phi96100* spesifik terhadap tetua Bima-4. Primer *phi328175* spesifik untuk tetua kedua hibrida yang diuji. Pengujian terhadap varietas Bima-3 dan Bima-4 menunjukkan bahwa kemurnian genetik kedua varietas terbut adalah 97,5% dan 80%; 2) Isolat B28 dan B46 dapat meningkatkan IV masing-masing 19% dan 22%, dan memiliki  $K_{CT}$  yang tinggi dibanding kontrol (air); 3). Isolat B46, B42, B13, P14, P31, AB2, AB3, AB11, ATS4, dan ATS5, dapat meningkatkan daya berkecambah dibandingkan dengan kontrol; 4) Penggunaan rizobakteri secara signifikan mempengaruhi tinggi tanaman 2, 4, dan 6 MST. Penggunaan pupuk P dengan dosis yang berbeda, tidak berpengaruh nyata pada jumlah daun pada umur 2 dan 4 MST, namun pada

<sup>1</sup>Dep. Agronomi dan Holtikultura, Fakultas Pertanian, Institut Pertanian Bogor.

Jl. Meranti Campus IPB Dramaga Bogor 16680

<sup>2</sup>Departemen Proteksi Tanaman Jl. Kamper Kampus IPB Bogor

<sup>3</sup>Balai Penelitian Serealia, Jl. Dr. Ratulangi 274 Maros 90514.

\* Penulis korespondensi: memensurahman@yahoo.com

B28 dan B46 dapat meningkatkan IV masing-masing 19% dan 22%, dan memiliki  $K_{CT}$  yang tinggi dibanding kontrol (air); 3). Isolat B46, B42, B13, P14, P31, AB2, AB3, AB11, ATS4, dan ATS5, dapat meningkatkan daya berkecambah dibandingkan dengan kontrol; 4) Penggunaan rizobakteri secara signifikan mempengaruhi tinggi tanaman 2, 4, dan 6 MST. Penggunaan pupuk P dengan dosis yang berbeda, tidak berpengaruh nyata pada jumlah daun pada umur 2 dan 4 MST, namun pada

**umur 6 MST berpengaruh nyata. Penggunaan rizobakteri tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun umur 2 dan 6 MST, tapi berbeda nyata pada saat tanaman berumur 4 MST. Isolat B28, B42 dan ATS4 berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman.**

**Kata kunci: Kemurnian genetik, mutu fisiologis, rhizobakteri, efisiensi pupuk P, benih jagung hibrida.**

## PENDAHULUAN

Jagung merupakan komoditas unggulan nasional, dan merupakan salah satu dari lima komoditas prioritas yang diprogramkan oleh pemerintah. Dengan berkembang pesatnya industri peternakan, diperkirakan lebih dari 55% kebutuhan jagung dalam negeri digunakan untuk pakan, sedangkan untuk konsumsi pangan  $\pm$  30%, dan selebihnya untuk kebutuhan industri lainnya dan bahan. Dengan demikian, peran jagung lebih sebagai bahan baku industri dibanding sebagai bahan pangan (Kasryno *et al.*, 2007). Dengan meningkatnya krisis energi, maka juga akan terjadi peningkatan penggunaan jagung sebagai sumber bioetanol.

Pada tahun 2009, luas panen jagung di Indonesia 4,156,706 ha, dengan total produksi 17,59 juta ton dan produktivitas 4,23 t/ha (BPS Indonesia, 2010). Produksi tersebut masih belum dapat mencukupi kebutuhan jagung nasional. Pada tahun 2010 produksi jagung ditargetkan akan mencapai 19,8 juta ton, namun kenyataannya hanya mencapai 17,9 juta ton. Jadi produksi jagung tahun 2010 masih ada kekurangan sekitar 2 juta ton. Untuk memenuhi kebutuhan jagung industri pakan ternak telah melakukan impor jagung. Hingga pertengahan tahun 2010 impor jagung yang dilakukan pabrikan pakan ternak sudah mencapai 800.000 ton (Business News, 2010).

Salah satu upaya untuk meningkatkan produktivitas jagung adalah mengembangkan varietas unggul yang berdaya hasil tinggi dan adaptif seperti varietas hibrida. Untuk menunjang penggunaan varietas jagung hibrida, diperlukan benih berkualitas prima. Berdasarkan data BPS di atas, dapat diprediksi bahwa kebutuhan benih jagung dengan luas tanam yang sama dengan luas panen tersebut adalah sebesar 83.134 ton/tahun (asumsi kebutuhan benih 20 kg/ha). Namun kebutuhan benih tersebut belum dapat terpenuhi, selain itu benih jagung yang beredar di pasaran terdapat beberapa kelemahan baik dari kualitas genetik maupun fisiologis.

Untuk mendukung peningkatan produksi jagung di Indonesia, Karama (2004), berpendapat bahwa kebijakan perbenihan jagung komersil tingkat nasional sebaiknya diproduksi di Indonesia. Namun hingga saat ini, sumber daya dan kelembagaan perbenihan jagung dalam negeri belum merupakan

produsen pertanian yang mumpuni dan berdaya saing handal (Baihaki, 2004). Oleh sebab itu, aspek pemahaman ilmu pemuliaan praktis dalam kehidupan pertanian khususnya ilmu menghasilkan benih jagung bermutu oleh petani harus diperluas dan ditingkatkan.

Berkaitan dengan kualitas benih, hal-hal yang perlu diperhatikan adalah: (1) teknik produksi benih berkualitas; (2) teknik mempertahankan kualitas benih yang telah dihasilkan, penyimpanan dan pendistribusiannya; dan (3) teknik deteksi kualitas benih (Saenong, *et al.*, 2005). Selanjutnya dikatakan bahwa berkaitan dengan kualitas benih, terdapat tiga kriteria yaitu: (a) kualitas genetik, yaitu kualitas benih yang ditentukan berdasarkan identitas genetik yang telah ditetapkan oleh pemulia dan tingkat kemurnian dari varietas yang dihasilkan. Identitas benih ini tidak hanya ditentukan oleh tampilan benih, tetapi juga oleh tampilan fenotipe tanaman; (b) kualitas fisiologis, yaitu kualitas benih yang ditentukan oleh daya berkecambah dan ketahanan simpan benih; (c) kualitas fisik, yaitu kualitas benih yang ditentukan oleh kebersihan, keseragaman biji dari segi ukuran dan bobot, kontaminasi dari benih tanaman lain atau biji gulma dan kadar air.

Untuk mendeteksi kualitas genetik benih dari suatu varietas, dapat dilakukan dengan cara pengamatan morfologi tanaman, dengan marka biokimia dan atau dengan marka molekuler (DNA). Marka molekuler digunakan untuk mengatasi kesulitan seleksi secara konvensional, membantu mengurangi ukuran populasi dan waktu yang dibutuhkan dalam program pemuliaan per siklus seleksi. Beberapa kelebihan marka molekuler adalah kemampuannya menyeleksi tanaman pada tahap pembibitan, yang biasanya baru bisa diamati setelah tanaman tumbuh menjadi besar dan kemampuannya menyeleksi sifat yang sangat sulit, yang bila menggunakan seleksi fenotipe saja membutuhkan waktu relatif panjang (Couch *et al.* 1991). Berbeda dengan marka morfologi dan biokimia, marka DNA selain tidak terbatas di dalam jumlah, juga tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan/atau fase perkembangan dari tanaman (Tanksley dan McCouch, 1997).

Secara visual benih yang mengalami segregasi penampilannya semua sama, tidak dapat dibedakan mana yang menyimpang mana yang tidak. Jika hal ini dibiarkan terus maka kultivar-kultivar yang

dikembangkan akan semakin jauh dari aslinya. Kesalahan ini erat kaitannya dengan teknik produksi di lapangan, khususnya untuk jagung karena sifatnya yang menyerbuk silang. Dengan demikian, untuk mengontrol kemurnian kultivar dan inbrida pembentuknya dari generasi ke generasi secara cepat dan akurat, maka pemanfaatan alat bantu marka molekuler seperti SSR sangat mendukung.

*Simple Sequence Repeat* (SSR) atau biasa disebut mikrosatelit merupakan salah satu dari marka molekuler, yang terdiri atas unit pengulangan 1 - 6 pasang basa DNA dengan variasi yang tinggi (Gupta *et al.* 1996; Senior *et al.* 1998). Marka mikrosatelit banyak digunakan dalam studi genetik dengan pertimbangan diantaranya adalah terdistribusi secara melimpah dan merata dalam genom, variabilitasnya sangat tinggi (banyak alel dalam lokus), dan sifatnya yang kodominan dengan lokasi genom yang telah diketahui. Keunggulan lain adalah selain dapat dielektroforesis dengan gel agarose, juga dapat dielektroforesis dengan menggunakan gel akrilamid terutama pada alel suatu karakter yang memiliki tingkat polimorfis yang rendah, dimana gel agarose tidak mampu digunakan. Dengan demikian, gel akrilamid mampu mendeteksi lebih banyak alel per lokus daripada gel agarose (Macaulay *et al.* 2001).

Hasil penelitian Pabendon *et al.* (2005), dari 26 marka MIKROSATELIT yang diuji terdapat 10 marka yang memiliki tingkat polimorfis yang tinggi, sehingga marka tersebut dapat digunakan dalam melakukan sidik jari materi-materi hibrida jagung, untuk mempertahankan kualitas dan untuk perlindungan varietas. Hasil penelitian penggunaan marka MIKROSATELIT untuk pengujian kemurnian benih tomat hibrida (Hezuo 903 dan Sufen No.8), menunjukkan bahwa tingkat kemurnian benih masing-masing mencapai 96,2 dan 93,8 %, dimana tidak berbeda jauh dengan uji morfologi yaitu masing-masing mencapai 96,7 dan 95,2% (Liu, 2007). Hal ini menunjukkan bahwa marka SSRs dapat digunakan sebagai alat untuk mengontrol kualitas benih tomat hibrida.

Marka mikrosatelit, banyak digunakan pada program pemuliaan tanaman, namun masih sedikit digunakan untuk mengevaluasi kemurnian genetik suatu varietas terutama varietas-varietas komersial. Kemudahan MIKROSATELIT dalam mengamplifikasi dan mendeteksi fragmen-fragmen DNA, serta tingginya tingkat polimorfisme yang dihasilkannya menyebabkan metode ini ideal untuk dipakai dalam studi genetik dan evaluasi kemurnian genetik.

Selain memelihara kemurnian genetik, dalam produksi benih, diupayakan adanya peningkatan mutu fisiologis dan produktivitas benih. Kualitas

fisiologis benih memiliki pengaruh besar terhadap produksi tanaman. Benih dengan mutu fisiologis yang tinggi akan menghasilkan tanaman yang sehat dengan sistem perakaran yang berkembang dengan baik, dapat lebih tahan terhadap kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, pertumbuhan bibit yang cepat, dan terbukti berkorelasi dengan hasil yang tinggi (Harris *et al.* 2000).

Salah satu cara untuk peningkatan mutu fisiologis dan produktivitas benih adalah dengan pemberian pupuk fosfor (P). Pupuk P yang diberikan pada tanaman, hanya sebagian yang diserap oleh tanaman sebesar 10 - 30 % dari pupuk yang diberikan, dan selebihnya tersimpan dalam tanah sebagai residu (Jones, 1982). Pupuk P yang diberikan mengalami proses pengikatan atau fiksasi oleh tanah sehingga sukar larut dan tidak tersedia bagi tanaman. Penggunaan rizobakteri perlarut fosfat seperti *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. dapat melarutkan bentuk-bentuk fosfat yang sukar larut sehingga menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman (Rodriquez, 1999; Rao, 2007; Prihartini, 2009). Dengan demikian penggunaan pupuk P lebih efisien dan dapat dihemat.

Glick *et.* (2007), melaporkan bahwa fungsi rizobakteria terhadap pertumbuhan tanaman adalah: (i) membantu dalam memperoleh nutrisi seperti nitrogen, fosfor atau besi; (ii) mencegah perkembangbiakan organisme patogen; dan (iii) menyediakan hormon tanaman seperti auksin atau sitokinin, atau menurunkan produksi etilen melalui aktivitas enzim 1-aminocyclopropane-1-karboksilat (ACC) deaminase. Gholami *et al.*, (2009) mengemukakan bahwa inokulasi benih jagung dengan rizobakteria secara signifikan meningkatkan daya berkecambah dan vigor benih jagung. Namun, tingkat peningkatan tersebut bervariasi antar jenis bakteri. Bakteri *A.lipoferum* DSM1691, meningkatkan daya berkecambah benih jagung hingga 18,5% di banding tanpa inokulasi. Sementara peningkatan indeks vigor tertinggi diperoleh dari inokulasi *A.brasilense* DSM 1690 dan *P.putida* R-168. Demikian pula, hasil penelitian pada tanaman pisang dalam kondisi hidroponik, pemberian Plant Growth Promotion Rhizobacteria (PGPR) dapat meningkatkan volume dan panjang akar, tinggi tanaman (42-50%), luas daun (128 - 134%), kandungan klorophyll (25 - 33%) dan berat kering total (Baset 2010).

Di Indonesia, penggunaan rizobakteria sebagai *biostimulants* dan *biofertilizer* untuk meningkatkan produksi pertanian masih sangat sedikit, meskipun berbagai penelitian menunjukkan bahwa rizobakteria berpotensi sangat besar dalam meningkatkan produksi pertanian. Oleh karena itu, penelitian

mengenai pemanfaatan rizobakteria sebagai *biostimulants* dan *biofertilizer* sangat penting dilakukan dalam usaha untuk meningkatkan produksi pertanian yang efisien dan ramah lingkungan.

Secara umum, tujuan penelitian ini adalah menghasilkan benih jagung hibrida dengan mutu genetik dan mutu fisiologis yang tinggi, dan menghasilkan teknologi yang dapat meningkatkan produksi benih jagung hibrida. Tujuan khusus penelitian ini adalah (1) mendapatkan marka mikrosatelit yang spesifik untuk tetua jantan dan betina; (2) mengevaluasi kemurnian genetik benih jagung hibrida dengan menggunakan marka MIKROSATELIT; (3) mendapatkan rizobakteri yang dapat meningkatkan mutu fisiologis benih tetua jagung hibrida; 4) mendapatkan rizobakteri yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman jagung efisiensi pupuk P anorganik.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan dalam empat tahap percobaan. Percobaan-percobaan tersebut dilakukan di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Cimanggu Bogor, di laboratorium Bakteriologi Departemen Proteksi Tanaman IPB, di Laboratorium Benih IPB, di kebun percobaan Cikabayan, dan pengujian lapang dilaksanakan di kabupaten Lombok Barat, Nusa Tenggara Barat.

### Percobaan A: Identifikasi marka molekuler spesifik tetua jantan dan betina

Tujuan percobaan ini adalah untuk mendapatkan marka mikrosatelit yang spesifik untuk tetua jantan dan betina yang digunakan dalam produksi benih jagung hibrida.

Percobaan ini dilaksanakan di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian, Cimanggu Bogor. Inbrida jagung (tetua betina dan tetua jantan) yang digunakan adalah tetua yang digunakan untuk pembentukan hibrida Bima-3 dan Bima-4 yaitu Nei 9008/MR-14 (Bima-3) dan G180/MR-14 (Bima-4). Benih berasal dari Balai Penelitian Tanaman Serealia (BALITSEREAL) Maros, dan marka yang diseleksi untuk spesifik tetua jantan dan betina, adalah marka yang mempunyai tingkat polimorfisme yang tinggi dalam penelitian sidik jari terhadap materi-materi hibrida jagung (Pabendon *et al.*, 2005) (Tabel 1).

Tabel 1 Lokus marka mikrosatelit yang digunakan dalam penelitian

Lokus SSR	Sekuen
phi109275	AAGCTCAGAAGCCGGAGC//GGTCATCAAGCTCTCTGATCG
phi96100	AGGAGGACCCCAACTCCTG//TTGCACGAGCCATCGTAT
phi374118	TACCCGGACATGGTTGAGC//TGAAGGGTGTCCTCCGAT
phi328175	GGAAGTGCTCCTTGACAG//CGGTAGGTGAACGCGTA
phi072	ACCGTGCATGATTAATTTCTCCAGCCTT//GACAGCGCGCAAATGGATTGAAC

Benih tetua jantan dan betina ditanam sebanyak 20 individu pada bak plastik dengan menggunakan media tanah. Pada saat tanaman berumur 15 hari setelah tanam (HST), diambil sampel daun untuk ekstraksi DNA. Isolasi DNA, amplifikasi dan visualisasi pola pita DNA mengikuti prosedur George *et al.* (2004). Bagian tanaman yang diambil adalah daun muda yang telah membuka sempurna dari 20 individu tanaman, dipotong-potong kecil dan dicampur, dimasukkan ke dalam mortal dan ditambahkan nitrogen cair agar mudah digerus.

Setelah isolasi DNA, dilanjutkan dengan pengujian kualitas dan kuantitas DNA yang dihasilkan dan reaksi PCR. Untuk setiap reaksi PCR digunakan 1.5 µl DNA dan ditambahkan buffer (5x), Enhancer (5x), 0.2 µl dNTP mix (1 mM), 1.0 µl marka (0,5 mM), 0.1 µl TAG DNA polimerase (5µ/µl), dan 3.2 µl ddH<sub>2</sub>O, selanjutnya ditutup dengan satu tetes mineral oil. Proses amplifikasi terdiri atas beberapa tahap yaitu tahap denaturasi awal pada 94°C selama 2 menit, *denaturasi-1* 94°C selama 0,5 menit, 56°C selama 1 menit *annealing*, 72°C selama 1 menit *extention*, 72 °C selama 5 menit *extention* tambahan. Siklus diulang 29 kali dan berakhir dengan siklus pemanjangan pada 4°C. Hasil PCR ditambahkan 4 µl *loading dye* pada masing-masing sumur, dan di elektroforesis dengan menggunakan PAGE (*Polyacrylamide Gel Electrophoresis*) 5% dengan arus konstan 100 Volt selama 70 menit atau hingga *bromphenol blue* telah mencapai bagian bawah plate. Gel segera direndam dalam larutan *Etidium bromida* sambil dishaker selama kurang lebih 10 menit, dan dilanjutkan perendaman dalam air selama 15 menit. Pita-pita DNA dideteksi dengan *Bio-Rad Laboratories Segrate Milan Italy*. Pengamatan dilakukan terhadap pita spesifik yang terbentuk pada setiap tetua/inbrida yang diuji.

### **Percobaan B. Evaluasi kemurnian genetik benih jagung hibrida dengan marka molekuler**

Tujuan percobaan ini adalah untuk mengetahui persentase kemurnian genetik benih jagung hibrida.

Penanaman di lapang dilakukan di kebun percobaan *University Farm* Cikabayan IPB Bogor dan di laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Bioteknologi dan Sumberdaya Genetik Pertanian Bogor. Benih varietas jagung hibrida yang diuji kemurnian genetiknya yaitu Bima-3 dan Bima-4 berasal dari BALITSEREAL Maros. Marka yang digunakan untuk menguji kemurnian genetik adalah marka yang teridentifikasi polimorfis dan spesifik pada tetua jantan dan betina pada percobaan 1.

Penanaman hibrida di lapang dengan jarak tanam 75 cm x 20 cm. Pemupukan dilakukan dua kali yaitu pertama berupa 100 kg ha<sup>-1</sup> Urea + 200 kg ha<sup>-1</sup> SP-36 + 75 kg ha<sup>-1</sup> KCl diberikan saat tanaman berumur 7-10 HST, dan kedua berupa 200 kg ha<sup>-1</sup> Urea + 25 kg ha<sup>-1</sup> KCl saat tanaman berumur 30-35 HST. Pemeliharaan tanaman dilakukan secara intensif.

Pengujian kemurnian genetik benih menggunakan marka mikrosatelit di laboratorium. Empat puluh sampel tanaman dari masing-masing varietas hibrida yang ditentukan secara acak diambil sampel daunnya untuk dilakukan pengujian kemurnian genetik dengan marka MIKROSATELIT. Isolasi DNA dengan cara *mini-prep* berdasarkan metoda Doyle dan Doyle (1990). Persentase tingkat kemurnian genetik hibrida dihitung berdasarkan pola pita yang muncul pada individu tanaman sampel, dengan formula sebagai berikut:

$$\text{Kemurnian hibrida (\%)} = \frac{\text{NH}}{\text{TS}} \times 100 \%$$

dimana:

TS (total sampel) = jumlah sampel/individu tanaman yang diuji

NH (non hibrida) = jumlah sampel/individu tanaman yang memiliki pola pita yang sama dengan tetua betina

Pengamatan morfologi tanaman dilapang dilakukan pada sampel yang sama. Uji kemurnian dilakukan dengan mengamati karakter morfologi berdasarkan deskripsi masing-masing varietas hibrida terutama warna anther dan warna rambut tongkol.

### **Percobaan C. Evaluasi rizobakteri dalam meningkatkan mutu fisiologis benih jagung hibrida**

Tujuan percobaan ini adalah untuk mendapatkan rizobakteri yang dapat meningkatkan mutu fisiologis benih tetua jagung hibrida.

Sebelum dilakukan percobaan osmoconditioning, dilakukan pengujian terhadap rizobakteri yang akan digunakan di laboratorium Proteksi Tanaman IPB yaitu :

#### ***Uji Pelarutan Fosfat***

Uji ini dilakukan dengan menggunakan media Pikovskaya (Subba-Rao 1999), dengan komposisi 10 g glukosa, 5 g Ca<sub>3</sub>HPO<sub>4</sub>, 0.5 g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.2 g KCl, 0.1 g MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 0.5 g ekstrak khamir, 25 mg MnSO<sub>4</sub>, 25 mg FeSO<sub>4</sub>, dan 20 g agar Bacto dalam 1 liter akuades. Suspensi isolat bakteri berumur 24-48 jam ditumbuhkan pada media Phikovskaya dengan metode sumur, evaluasi pelarutan fosfat dilihat dari zona bening yang dihasilkan di sekitar koloni setelah inkubasi selama 3 hari untuk *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* dan *Bacillus* spp. dan 7 hari untuk Aktinomiset.

#### ***Uji Hypersensitive Reaction (HR)***

Pengujian HR perlu dilakukan sebelum mempelajari karakter rizobakteri. Pengujian HR bertujuan untuk menyeleksi isolat bakteri patogen tanaman. Pengujian dilakukan dengan cara menyuntikkan isolat bakteri berumur 24 jam ke daun tembakau. Evaluasi dilakukan berdasarkan gejala nekrosis pada daun tembakau. Isolat yang menunjukkan gejala nekrosis (HR+) mengindikasikan isolat tersebut merupakan patogen tanaman. Isolat dengan HR+ tidak diuji lebih lanjut.

#### ***Produksi IAA***

Bakteri yang diuji berupa *P. fluorescens*, *Bacillus* spp., dan Aktinomiset yang teridentifikasi melarutkan fosfat, masing-masing jenis 6 isolat. Produksi IAA dianalisis dengan metode Glickman dan Dessaux (1995). Isolat *P. fluorescens* ditumbuhkan selama 24 jam dalam medium King's B cair, *Bacillus* spp. dalam larutan *nutrient broth* dan Aktinomiset spp. pada medium *Yeast Casamino Acid extract D-glukosa* (YCED). Untuk memacu sintesis auksin, ke dalam masing-masing media ditambahkan asam amino triptofan 0.5 g/l.

Kultur bakteri disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit, kemudian supernatan dipisahkan dari endapan bakteri, dan dianalisis kandungan IAA-nya. Kandungan IAA dalam filtrat kultur bakteri dideteksi dengan menggunakan pereaksi FeCl<sub>3</sub>, 12 g/l dalam 7,9 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Pereaksi FeCl<sub>3</sub> (1 ml) dan filtrat kultur bakteri (1 ml) ditambahkan ke dalam tabung *ependorf* (volume 2 ml), dan campuran diinkubasi dalam ruang gelap pada suhu 26°C selama 30 menit. Setelah periode inkubasi, nilai absorban campuran dibaca dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm.

Kurva standar berdasarkan nilai absorban larutan IAA murni, digunakan untuk menghitung kandungan IAA dalam filtrat kultur bakteri.

Pengujian mutu fisiologis dilakukan di rumah kaca Laboratorium Benih Leuwikopo. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap faktor tunggal, dimana jenis rizobakteri yang diuji sebagai perlakuan, dan masing-masing perlakuan diulang sebanyak empat kali. Rizobakteri yang diuji sebanyak 15 isolat yang berasal dari jenis *Pseudomonas*, *Bacillus spp*, dan *Actinomyces*, koleksi Laboratorium Bakteriologi Departemen Proteksi Tanaman IPB. Benih jagung yang digunakan adalah NEI 9008 (tetua betina) untuk pembentukan varietas hibrida Bima-3.

Benih jagung yang telah diberi perlakuan rizobakteri dikembalikan dalam bak plastik berukuran 40 cm x 25 cm x 10 cm (panjang, lebar, dan tinggi) yang berisi media pasir. Setiap perlakuan dalam bak plastik ditanam sebanyak 25 benih. Untuk menjaga media agar tetap lembab, dilakukan penyiraman tiap hari.

Variabel yang diamati berupa : persen berkecambah, indeks vigor, kecepatan tumbuh, berat kering kecambah normal, tinggi bibit dan panjang akar (umur 4 MST). Data yang dikumpulkan dianalisis dengan analisis sidik ragam (Anova) dengan bantuan software SAS versi 9,0. Jika terdapat perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji jarak berganda Duncan (DMRT) pada taraf 5%.

#### **Percobaan D. Uji Efektivitas rizobakteria dalam meningkatkan mutu fisiologis benih jagung dan mengurangi penggunaan pupuk P di polybag**

Tujuan percobaan ini adalah untuk mengetahui efektivitas rizobakteria untuk perbaikan mutu fisiologis benih jagung serta pengurangan penggunaan P anorganik.

Percobaan dilakukan di kebun percobaan Cikabayan, IPB Bogor. Percobaan menggunakan rancangan acak lengkap dengan rancangan perlakuan petak terbagi. Petak utama terdiri atas lima taraf dosis pemupukan P yaitu: P<sub>1</sub>) kontrol (tanpa P), P<sub>2</sub>) 25 % dari dosis anjuran (50 kg SP-36/ha), P<sub>3</sub>) 50% dari dosis anjuran (100 kg SP-36/ha), P<sub>4</sub>) 75% dari dosis anjuran (150 kg SP-36/ha), dan P<sub>5</sub>) 100% dosis anjuran (200 kg SP-36/ha). Anak petak adalah perlakuan benih dengan rizobakteri yaitu (A) B28;(B) B42;(3) P14;(4) P31; (5) AB2; (6) ATS4; (7) tanpa rizobakteri. Setiap satuan percobaan terdiri atas 3 sampel tanaman. Masing-masing kombinasi perlakuan diulang tiga kali.

Benih tetua betina dan tetua jantan yang digunakan adalah Nei 9008 dan MR-14, berasal dari

Balitsereal Maros. Tetua tersebut digunakan dalam memproduksi jagung hibrida Bima-3. Tanah yang digunakan dalam percobaan ini sebelumnya disterilkan. Sterilisasi tanah dilakukan selama 3 - 4 jam pada suhu 120°C dengan tekanan 1,5 - 2,0 atm. Tanah yang disterilkan dimasukkan ke dalam polybag, masing-masing sebanyak 9 kg tiap polybag. Benih tetua betina ditanam dalam polybag sebanyak 480 buah, dua benih/polybag. Penjarangan menjadi satu tanaman/polybag dilakukan pada saat tanaman berumur satu minggu setelah tanam (MST). Untuk tetua jantan ditanam dalam polybag sebanyak 120 buah, dua benih/polybag. Pemupukan Urea dengan dosis 300 kg ha<sup>-1</sup> diberikan dua kali yaitu 1/3 bagian pada saat tanaman berumur 7-10 HST dan 2/3 bagian sisanya saat berumur 30-35 HST. Pemupukan KCl dengan dosis 100 kg ha<sup>-1</sup> diberikan dua kali yaitu 75% pada saat tanaman berumur 7-10 HST dan 25% sisanya saat berumur 30-35 HST. Untuk pupuk SP-36 diberikan pada saat tanaman berumur 7-10 HST dengan dosis sesuai perlakuan dan dikonversi sesuai kebutuhan tanaman setiap polybag.

Rizobakteri yang digunakan pada percobaan ini sebanyak isolat yang terbaik yang masing-masing berasal dari tiga jenis bakteri (*Bacillus spp*, *P. fluorescens*, dan Aktinomiset) dari hasil percobaan C. Aplikasi rizobakteri dan pupuk SP-36 dilakukan terhadap tetua betina sesuai dengan perlakuan. Rizobakteri sebagai perlakuan diberikan dua kali yaitu perlakuan pada benih dan saat tanaman berumur 30 HST. Aplikasi pertama sebagai perlakuan benih, dimana sebelum benih ditanam direndam dalam suspensi bakteri dengan perbandingan 1:1,2 (b/v) selama 12 jam, dan kemudian dikeringanginkan. Aplikasi ke dua, suspensi yang berisi bakteri disiram pada pangkal tanaman pada saat tanaman berumur 35 HST. Untuk perlakuan tanpa rizobakteri, benih direndam dengan air steril sebagai pengganti suspensi rizobakteri, kemudian dikeringanginkan (Bennet and Waters, 1987 dalam Afzal *et al.* 2002; Khalimi, 2009). Untuk tetua jantan dilakukan pemupukan sesuai rekomendasi yaitu 300 kg Urea ha<sup>-1</sup>, 200 kg SP-36 ha<sup>-1</sup>, dan 100 kg KCl ha<sup>-1</sup>. Cara dan waktu aplikasi pupuk Urea dan KCl seperti pada tetua betina, sedang pupuk SP-36 diberikan seluruhnya pada saat tanaman berumur 7-10 HST bersamaan pupuk Urea dan KCl pertama.

Pengamatan dilakukan terhadap pertumbuhan tanaman (fase vegetatif dan fase generatif). Data yang dikumpulkan dianalisis dengan analisis sidik ragam (Anova) dengan bantuan software SAS versi 9,0. Jika terdapat perbedaan antar perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji DMRT pada taraf 5%.

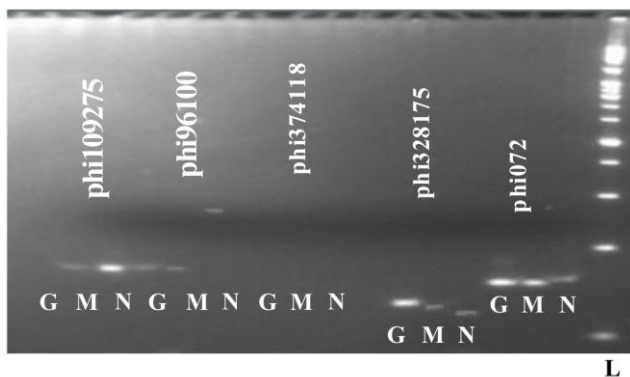
## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Identifikasi marka molekuler spesifik tetua jantan dan betina

Dari identifikasi lima marka, terdapat satu marka (*phi 109275*) teridentifikasi spesifik untuk tetua hibrida Bima-4, marka *phi072* spesifik untuk tetua Bima-3 (MR-14 dan Nei9008), dan satu marka (*phi 328175*) teridentifikasi spesifik untuk tetua hibrida Bima-3 dan Bima-4 (Gambar 1.). Pabendon (2005) melaporkan bahwa marka-marka tersebut memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi. Marka *phi96100*, *phi072*, dan *phi328175* dapat dipertimbangkan untuk digunakan dalam pengujian kemurnian genetik hibrida Bima-3 dan Bima-4.

### Kemurnian genetik benih jagung hibrida dengan marka molekuler

Jika dibandingkan dengan pengamatan secara morfologi, marka mikrosatelit dapat mengidentifikasi benih/tanaman campuran lebih banyak dalam satu lot benih (Tabel 2.). Pada pengamatan morfologi, individu tanaman campuran ditandai dengan warna anther merah keunguan dan warna rambut tongkol kemerah-merahan, sementara individu tanaman yang sesuai dengan deskripsi baik anther maupun rambut tongkol berwarna krem. Hal ini menunjukkan bahwa marka mikrosatelit lebih akurat dalam mengidentifikasi benih hibrida dibanding pengamatan morfologi. Tanksley dan McCouch (1997), melaporkan bahwa marka DNA selain tidak terbatas di dalam jumlah, juga tidak dipengaruhi oleh lingkungan dan/atau fase perkembangan dari tanaman seperti marka morfologi. Individu tanaman nomor 31 terdeteksi bukan hibrida Bima-4, baik dengan marka mikrosatelit maupun dengan pengamatan morfologi, berbeda dengan tanaman sampel nomor 39 berdasarkan *grow out test* bukan hibrida ternyata merupakan hibrida berdasarkan



Gambar 1 Visualisasi marker spesifik untuk tetua jagung hibrida (G = G180; M = MR-14, N = Nei 9008; L = DNA ladder)

mikrosatelit.

Berdasarkan deskripsi varietas, Bima-3 memiliki warna anther dan rambut tongkol krem. Pengamatan morfologi terhadap hibrida Bima-3, menunjukkan bahwa tanaman nomor 28 tidak sesuai warna anther (keunguan), tapi tidak terlihat pada pengujian dengan marka mikrosatelit (Tabel 3). Sebaliknya tanaman nomor 38 teridentifikasi sebagai non hibrida pada uji mikrosatelit, tidak terlihat pada pengamatan morfologi. Mulsanti (2011) melaporkan juga adanya perbedaan hasil dalam pengujian kemurnian genetik hibrida padi dengan marka mikrosatelit dan secara morfologi.

### Pengaruh rizobakteri terhadap mutu fisiologis dan pertumbuhan bibit tetua jagung hibrida

Sebelum dilakukan pengujian rizobakteria dirumah kaca, dilakukan identifikasi terhadap potensi rizobakteri dalam melarutkan fosfat dan menghasilkan IAA. Peremajaan dilakukan terhadap 29 isolat *Bacillus spp.*, 23 isolat *Pseudomonas spp.*, dan 15 isolat Aktinomiset. Dari hasil peremajaan terpilih 12 isolat *Bacillus spp.*, 12 isolat *Pseudomonas spp.*, dan 12 isolat Aktinomiset. Seleksi dilakukan berdasarkan kecepatan pertumbuhan dalam medium masing-masing jenis rizobakteri tersebut.

#### Kemampuan melarutkan fosfat

Rizobakteri yang dapat melarutkan kalsium fosfat dapat tumbuh dan berkembang pada media Pikovskaya. Kalsium fosfat yang larut akan menyebabkan warna media menjadi bening. Zona bening yang lebih besar menunjukkan kemampuan produksi fosfatase yang lebih tinggi (Gambar 2). Dari hasil uji dengan metode sumur, teridentifikasi 6 isolat *P. fluorescens*, 6 isolat *Bacillus*, dan 9 isolat Aktinomiset yang dapat melarutkan fosfat. Rizobakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* yang mampu melarutkan fosfat yaitu: P12, P13, P14, P24 dan P31. Rizobakteri *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* memiliki kemampuan yang lebih tinggi

Tabel 2 Kemurnian benih hibrida Bima-4 berdasarkan marka mikrosatelit dan *grow out test*

Uji kemurnian	Jumlah sampel	Tanaman campuran (%)	Nomor sampel
MIKROSATELIT	40	20	4,6,8,9,10,12,31,34
<i>Grow out test</i>	40	5	31,39

Tabel 3 Kemurnian benih hibrida Bima-3 berdasarkan marka mikrosatelit dan *grow out test*

Uji kemurnian	Jumlah sampel	Tanaman campuran (%)	Nomor sampel
MIKROSATELIT	40	2.5	38
<i>Grow out test</i>	40	2.5	28



melarutkan fosfat dibanding isolat kelompok *Bacillus* spp. dan Aktinomiset. Menurut Goenadi (2008), enzim fosfatase dan asam organik harus dihasilkan oleh mikroba pelarut fosfat agar mampu melarutkan senyawa fosfat.

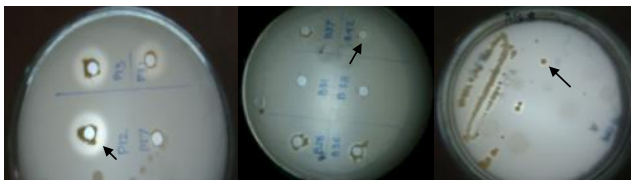
Rizobakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. dapat mengeluarkan asam organik seperti asam format, asetat, dan laktat yang berfungsi untuk melarutkan bentuk-bentuk fosfat yang sukar larut sehingga menjadi bentuk yang tersedia bagi tanaman (Subba-Rao 2007; Prihartini 2009).

**Produksi Asam Indole Asetat (IAA)**

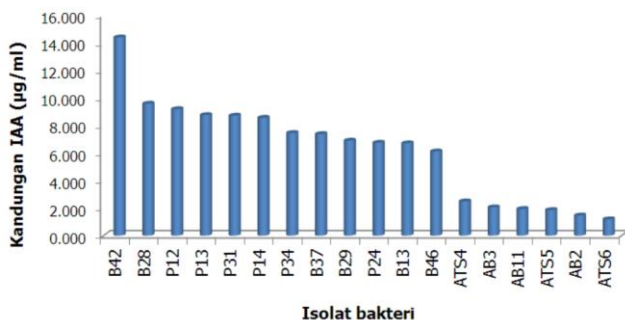
Secara *in vitro*, seluruh isolat rizobakteri yang diuji mampu memproduksi IAA. Pada penelitian ini rizobakteri dari kelompok *Bacillus* spp. dan *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* menghasilkan IAA lebih tinggi dibandingkan isolat dari kelompok *Aktinomiset*. Isolat B42 memiliki produksi IAA tertinggi (Gambar 3). Menurut, rizobakteri dari kelompok *Bacillus* spp. menghasilkan IAA lebih tinggi (Thakuria *et al.* 2004; Widayanti 2006). Ahmad *et al.* (2005) melaporkan bahwa kemampuan rizobakteri kelompok *Pseudomonas* spp. menghasilkan IAA lebih tinggi dibandingkan rizobakteri lain.

**Hipersensitivitas Reaction (HR)**

Dalam penelitian ini pengujian HR isolat rizobakteri dilakukan pada daun tembakau. Daun tembakau akan berwarna coklat dan kering akibat nekrosis jika rizobakteri yang diujikan merupakan patogen. Menurut Klement (1990), respon hipersensitif merupakan reaksi pertahanan cepat dari



Gambar 2 Pelarutan fosfat oleh isolat bakteri yang diuji.



Gambar 3 Produksi IAA (µg/ml) dari isolat *bacillus* spp., *P. flourescens*, dan aktinomiset.

tanaman terhadap patogen yang tidak kompatibel disertai dengan kematian sel yang cepat pada jaringan yang diinjeksi bakteri.

Rizobakteri yang menunjukkan gejala hipersensitif pada daun tembakau diduga merupakan patogen bagi tanaman. Berdasarkan pengujian HR dari 10 isolat kelompok Aktinomiset terdapat empat isolat yang positif adalah AB4, AB10, APS12 dan ATS8. Pada kelompok *Bacillus* spp. yang diuji terdapat tiga isolat yang menunjukkan gejala hipersensitif yaitu B11, B31 dan B36. Pada *Pseudomonas* kelompok *fluorescens* terdapat tiga isolat yang positif yaitu P16, P17, dan P32.

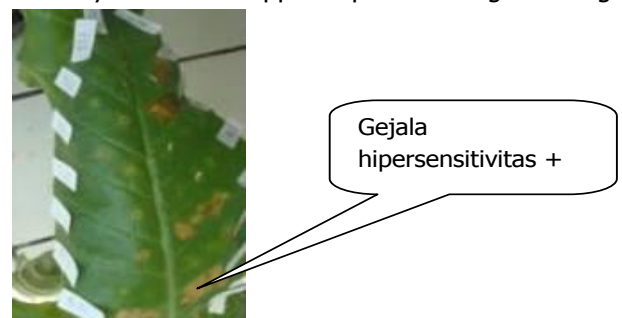
**Pengaruh rizobakteri terhadap mutu fisiologis benih tetua jagung hibrida**

Pengamatan secara visual dari aspek pertumbuhan tanaman, sebagian besar isolat yang diuji baik dari *Bacillus* spp, *P. flourescens* dan Aktinomiset memiliki penampilan yang lebih baik dibanding kontrol (Air) (Gambar 5).

Pengamatan terhadap indeks vigor (IV), menunjukkan bahwa isolat B28, dan B46 mencapai IV tertinggi dan berbeda nyata dengan perlakuan P12 dan kontrol (Air) (Tabel 4). Isolat B28 dan B46 dapat meningkatkan IV masing-masing 19% dan 22%. Demikian pula pada variabel kecepatan tumbuh, isolat B28 dan B46, memiliki K<sub>CT</sub> yang tinggi dibanding isolat P12 dan kontrol (Air).

Dari Gambar 6, terlihat bahwa isolat B28 mampu mencapai DB hingga 80%, berbeda nyata dengan perlakuan isolat P24, P34, P12, dan kontrol (air), namun tidak berbeda nyata dengan perlakuan B46, B42, B13, P14, P31, AB2, AB3, AB11, ATS4, dan ATS5. Isolat B28 mampu meningkatkan DB 15% dibanding kontrol.

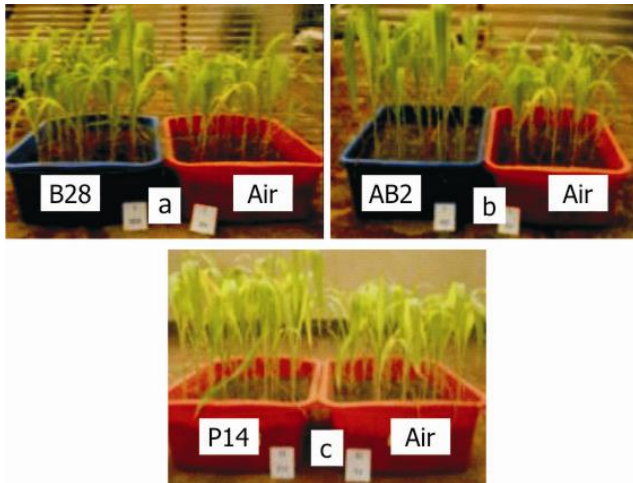
Perlakuan benih dengan rizobakteri B28 dan B46 cenderung dapat meningkatkan DB dan IV. Perlakuan lainnya juga memiliki potensi meningkatkan viabilitas dan vigor benih, kecuali rizobakteri P12, P24 dan P34 yang menurunkan viabilitas dan vigor benih jagung. Berbagai penelitian menunjukkan bahwa sangat banyak jenis mikroba khususnya *Bacillus* spp. dapat berfungsi sebagai



Gambar 4 Gejala hipersensitivitas isolat bakteri.



PGPR sekaligus dapat berperan sebagai pengendali penyakit tanaman. Kemampuan *Bacillus* spp. didukung oleh pembentukan spora pada kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Klopper *et al.* 1999).



Gambar 5 Penampilan kecambah jagung umur 4 MST yang diberi perlakuan rizobakteri dibanding kontrol (air): a) *Bacillus* spp.; b) Aktinomiset; c) *P. fluorescens*.

Tabel 4 Pengaruh aplikasi rizobakteri terhadap indeks vigor (IV) dan kecepatan tumbuh ( $K_{CT}$ )

Isolat Bakteri	IV (%)	$K_{CT}$ (%/etmal)
B28	48.000 a *)	12.000 a *)
B46	51.000 a	12.750 a
B42	42.000 a b	10.500 ab
B37	37.000 a b	9.250 ab
B13	33.000 a b	8.250 ab
P14	44.000 a b	11.000 ab
P24	33.000 a b	8.250 ab
P31	35.000 a b	8.750 ab
P34	38.000 a b	9.500 ab
P12	29.000 b	7.250 b
AB2	42.000 a b	10.500 ab
AB3	36.000 a b	9.000 ab
AB11	38.000 a b	9.500 ab
ATS4	36.000 a b	9.000 ab
ATS5	42.000 a b	10.500 ab
Air	29.000 b	7.250 b

Keterangan:

IV = Indeks vigor;  $K_{CT}$  = kecepatan tumbuh; \*) Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT.

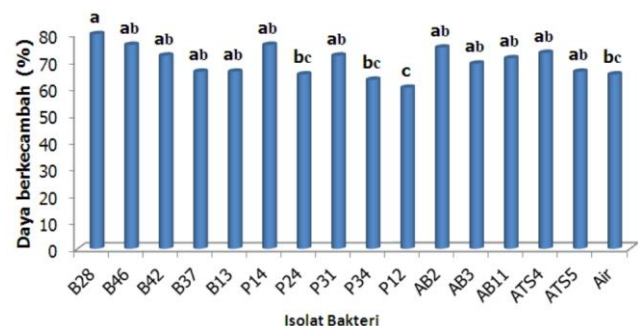
Pengamatan terhadap tinggi tanaman menunjukkan bahwa semua isolat yang diuji tidak berbeda nyata dengan kontrol (air). Tinggi tanaman berkisar antara 39,24 – 33,77 cm. Namun pada pengamatan panjang akar, terdapat perbedaan yang nyata antar isolat bakteri yang diuji. Isolat P34 dan P12 mampu meningkatkan panjang akar masing-masing 10,2 dan 9,35 cm dibanding kontrol.

Perlakuan benih dengan rizobakteri P12 (49.12 cm) dan P34 (49.99 cm) dapat meningkatkan panjang akar secara nyata dibanding kontrol (39.79 cm). Beberapa perlakuan benih dengan rizobakteri cenderung meningkatkan tinggi tanaman. Tinggi tanaman pada perlakuan benih dengan rizobakteri B13, B28, dan AB11 pada 9 HST berturut-turut 20.06, 19.94 dan 19.16 cm dibanding kontrol 18.51 cm. Tinggi tanaman umur 30 HST pada perlakuan benih dengan rizobakteri P24, P12 dan P34 berturut-turut 46.64, 49.14 dan 49.98 cm dibanding kontrol 39.79 cm (Tabel 5).

Inokulasi benih dengan rizobakteri *Pseudomonas* spp. dan *Bacillus* spp. dapat meningkatkan panjang akar dan tinggi tanaman gandum dan kacang ercis (Egamberdiyeva 2008), meningkatkan bobot kering bibit, luas daun, dan kandungan klorofil bibit jarak pagar (Desai *et al.* 2007). Menurut, aplikasi aktinomiset endofit pada padi mampu meningkatkan tinggi tanaman, panjang akar, dan bobot kering total tanaman (Yusepi 2011). Inokulasi isolat bakteri ke benih, berpengaruh terhadap BKKN. Isolat P14 memiliki BKKN yang lebih tinggi (11.243 g), namun tidak berbeda nyata dengan isolat lainnya kecuali dengan ATS5.

### Pengaruh rizobakteri terhadap pertumbuhan tanaman jagung dan efisiensi pupuk P

Penggunaan pupuk P dengan dosis yang berbeda berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman umur 4 MST, tidak berbeda nyata pada tinggi tanaman 2 dan 6 MST. Demikian pula terhadap jumlah daun, tidak berpengaruh nyata pada umur 2 dan 4



Gambar 6 Pengaruh aplikasi rizobakteri terhadap daya berkecambah benih tetua betina hibrida jagung.

MST, namun pada umur 6 MST berpengaruh nyata (Tabel 6). Hal ini diduga karena kandungan hara P

Tabel 5 Pengaruh aplikasi isolat bakteri terhadap tinggi tanaman, panjang akar, dan bobot kering bibit jagung pada umur 4 MST

Isolat Bakteri	Tinggi tanaman (cm)	Panjang akar (cm)	Bobot kering bibit (g/bibit)
B28	37.605 a	42.938 abc	10.750 ab
B46	33.770 a	42.413 abc	9.403 ab
B42	33.803 a	41.955 abc	8.805 ab
B37	36.978 a	44.738 ab	9.368 ab
B13	39.075 a	44.043 abc	10.190 ab
P14	36.875 a	43.383 abc	11.243 a
P24	37.035 a	46.643 ab	8.563 ab
P31	34.093 a	39.765 bc	8.415 ab
P34	39.328 a	49.983 a	10.360 ab
P12	39.243 a	49.138 a	9.043 ab
AB2	38.445 a	35.473 c	9.988 ab
AB3	36.438 a	44.878 ab	10.135 ab
AB11	36.570 a	41.263 abc	9.693 ab
ATS4	35.905 a	43.200 abc	9.423 ab
ATS5	35.258 a	39.033 bc	8.040 b
Air	36.353 a	39.788 bc	9.983 ab

Keterangan:  
Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata berdasarkan DMRT 0,05

Tabel 6 Pengaruh aplikasi pupuk P terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun pada umur 2, 4 dan 6 MST

Pupuk P (kg SP-36 ha <sup>-1</sup> )	Umur tanaman (MST)		
	2	4	6
	Tinggi tanaman (cm)		
0	23,778 a	46.317 ab	75.381 a
50	23,587 a	45.325 b	75.556 a
100	23,341 a	48.032 ab	74.270 a
150	23,587 a	47.722 ab	76.429 a
200	23,381 a	50.571 a	76.286 a
	Jumlah daun (helai)		
0	4,159 a	4,730 a	5,698 ab
50	4,143 a	4,698 a	5,254 c
100	4,127 a	4,794 a	5,381 bc
150	4,190 a	4,810 a	5,762 a
200	4,048 a	4,937 a	5,349 c

Keterangan:  
Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada DMRT 5%.

tersedia dalam tanah yang digunakan tergolong sangat tinggi yaitu dengan kandungan P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> (Olsen) 43 ppm (Balai Penelitian Tanah 2005).

Interaksi antara kedua perlakuan tersebut memberikan pengaruh yang nyata terhadap daya tumbuh. Interaksi antara isolat P14, AB2, dan ATS4 dengan tanpa pemberian pupuk P, menunjukkan daya tumbuh yang lebih tinggi dibanding lainnya, demikian pula interaksi antara isolat B42 dengan perlakuan P150. Hal ini di duga bahwa untuk perkecambahan, benih belum menggunakan unsur hara yang ada diluar, karena masih terdapat cadangan makanan dalam benih.

Inokulasi rizobakteri berpengaruh nyata terhadap tinggi tanaman 2, 4 dan 6 MST, namun tidak berbeda nyata dengan kontrol. Penggunaan rizobakteri tidak berpengaruh nyata terhadap jumlah daun umur 2 dan 6 MST, tapi berbeda nyata pada saat tanaman berumur 4 MST (Tabel 7). Isolat B28, B42, dan ATS4 mampu meningkatkan jumlah daun dibanding isolat lainnya. Kandungan hara P tanah yang tinggi diduga menyebabkan aktivitas rizobakteri untuk memacu pertumbuhan tanaman tidak optimal.

Peningkatan ketahanan tanaman terhadap patogen oleh rizobakteri akan memacu sintesis senyawa tertentu, sehingga energi taman untuk

Tabel 7 Pengaruh aplikasi rizobakteri terhadap tinggi tanaman dan jumlah daun pada umur 2, 4, dan 6 MST

Isolat Rizobakteri	Umur tanaman (MST)		
	2	4	6
	Tinggi tanaman (cm)		
B28	23,167 bc	48.178 ab	77.511 a
B42	24,089 ab	51.122 a	79.533 a
P14	23,078 bc	43.789 b	71.556 b
P31	22,811 c	43.478 b	70.333 b
AB2	23,578 abc	47.100 ab	73.733 ab
ATS4	23,622 abc	47.744 ab	77.845 a
Air	24,400 a	51.744 a	78.578 a
	Jumlah daun (helai)		
B28	4,067 a	4,822 abc	5,489 a
B42	4,178 a	5,200 a	5,689 a
P14	4,089 a	4,622 bc	5,400 a
P31	4,178 a	4,422 c	5,311 a
AB2	4,067 a	4,711 bc	5,444 a
ATS4	4,156 a	4,845 abc	5,644 a
Air	4,200 a	4,933 ab	5,445 a

Keterangan:  
Angka yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama tidak berbeda nyata pada uji DMRT 5%.

tumbuh sebagian terpakai dalam sistesis senyawa tersebut. Silva *et al.* (2004) dan Agrios (2005) menyatakan bahwa tingginya aktivitas enzim peroksidase berhubungan dengan lignifikasi sel dan papilla, serta pembentukan hidrogen peroksida yang secara langsung dapat menghambat pathogen. Keuntungan teknologi pupuk hayati selain meningkatkan pertumbuhan dan produksi tanaman, juga dapat meminimalkan biaya produksi dan menurunkan kerusakan lingkungan (Egamberdiyeva *et al.* 2006)

## KESIMPULAN

PTiga marka mikrosatelit spesifik (*phi96100*, *phi072*, *phi328175*) dapat digunakan untuk mengidentifikasi kemurnian benih hibrida jagung Bima-3 dan Bima-4. Berdasarkan marka mikrosatelit, diperoleh kemurnian genetik benih jagung hibrida Bima-3 97.5%, dan Bima-4 80%.

Isolat B28 dan B46 dapat meningkatkan Indeks Vigor (IV) masing-masing 19% dan 22%. Demikian pula pada variabel kecepatan tumbuh, isolat B28 dan B46, memiliki  $K_{CT}$  yang tinggi dibanding kontrol (Air).

Isolat yang diuji dapat meningkatkan daya berkecambah (DB) kecuali P24, P34, dan P12. Isolat yang dapat digunakan untuk pengujian selanjutnya adalah B28, B42, P14, P31, AB2, dan ATS4.

Penggunaan pupuk P dengan dosis yang berbeda berpengaruh terhadap tinggi tanaman umur 4 MST dan jumlah daun umur 6 MST. Penggunaan rizobakteri secara signifikan meningkatkan tinggi tanaman 2, 4, dan 6 MST, dan jumlah daun 4 MST.

Isolat B28, B42 dan ATS4 berpotensi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman.

## DAFTAR PUSTAKA

- Afzal I., Shahzad M.A. Basra, N. Ahmad, M.A. Cheema, E.A. Warraich, A. Khaliq. 2002. Effect of Priming and Growth Regulator Treatments on Emergence and Seedling Growth of Hybrid Maize (*Zea mays* L.). *Int. J. Agri. Biol.* 4 (2): 303 – 306.
- Ahmad F, Ahmad I, Khan M.S. 2005. Indoleacetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and *fluorescent Pseudomonad* in the presence and absence of tryptophan. *Turk J. Biol* 29:29-34.
- Agrios G.N. 2005. Plant Pathology. 5<sup>th</sup> ed. London: Elsevier Academic Press Publications.
- Badan Litbang Pertanian. 2008. Panduan Umum Pengelolaan Tanaman Terpadu Jagung. Jakarta.
- Baihaki, A. 2004. Mengantisipasi persaingan dalam menuju swasembada varietas unggul. Makalah Simposium PERIPI di Balitro Bogor, 5-7 Agustus 2004. 17 halaman.
- Baset Mia M.A., Z.H. Shamsuddin, Z. Wahab, M.Marziah. 2010. Effect of plant growth promoting rhizobacterial (PGPR) inoculation on growth and nitrogen incorporation of tissue-cultured *Musa* plantlets under nitrogen-free hydroponics condition. *Australian J. Crop Sci.* 4(2): 85-90.
- Bennett, M.A., Jr. L. Waters. 1987. Seed hydration treatments for improved sweet maize germination and stand establishment. *J. Amer.Soc. Hort. Sci.*, 112: 45–9.
- BPS Indonesia. 2010. Statistik Pertanian Indonesia. Badan Pusat Statistik dan Direktorat Jendral Tanaman Pangan. Jakarta
- Business News. 2010. Produksi jagung tahun 2010 tidak mencapai target. Jakarta, 20 November 2010. Download tanggal 27 Januari 2011.
- Couch SR, SD. Tanskley. 1991. Development and use of restriction fragment length polymorphism in rice breeding and genetic. In Khush GS. And Toenniessen GH. (eds) Rice Biotechnology. IRRI. Los Banos. Philipines. p.109-133.
- Desai S *et al.* 2007. Seed inoculation with *Bacillus* spp. improves seedling vigour in oil-seed plant *Jatropha curcas* L. *Biol. Fertil. Soil* 44: 229-234.
- Egamberdiyeva D *et al.* 2006. Improvement of wheat and cotton growth and nutrient uptake by phosphate solubilizing bacteria. 26<sup>th</sup> Southern Conservation. Tillage Convergence.
- Egamberdiyeva D. 2008. Plant growth promoting properties of rhizobacteria isolated from wheat and pea grown in loamy sand soil. *Turkish J. Biol* 32: 9-15.
- George, M.L.C., E. Regalado, M. Warburton, S. Vasal, D. Hoisington. 2004. Genetic diversity of maize inbred lines in relation to downy mildew. *Euphytica* 135: 145-155.
- Gholami.A., S. Shahsavani, S. Nezarat. 2009. The Effect of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) on Germination, Seedling Growth and Yield of Maize. World Academy of Science,

- Engineering and Technology 49 (2009) : 19 - 24.
- Glick B.R., Zhenyu Cheng, J Czarny, Jin Duan. 2007. Promotion of plant growth by ACC deaminase producing soil bacteria. *J. Plant Pathol* 119 : 329 – 339.
- Glickman E, Dessaux Y. 1995. A critical examination of specificity of slakowski reagent for indolic compound produced by phytopathogenic bacteria. *App Environ Microbiol* 61: 793-796.
- Goenadi DH. 2008. Pupuk dan teknologi pemupukan berbasis hayati. Jakarta: Yayasan John Hi-Tech Idetama.
- Gupta, PK., HS Balyan, PC Sharma, B Ramesh. 1996. Microsatellites in plants: A new class of molecular markers. *Journal of Current Sci.* 7 (1): 45 – 54
- Harris D, RS Tripathi, A Joshi. 2000. Onfarm priming to improve crop establishment and yield in direct seeded rice in IRRI : International Workshop on Dry –seeded Rice Technology. held in Bangkok, 25 – 28 January 2000. The international Rice Research institute. Manila. The Philippines. 164p.
- Jone, US. 1982. Fertilizers and soil fertility. 2<sup>nd</sup> ed. Reston Publ.Co. Reston. Virginia
- Karama. S. 2004. Posisi perbenihan Indonesia sekarang dan antiisipasi terhadap benih impor. Makalah Simposium PERIPI di Balitro Bogor, 5-7 Agustus 2004.
- Kasryno F, E Pasandaran, Suyamto, MO Adnyana. 2007. Gambaran umum ekonomi jagung Indonesia. *dalam* Jagung. Teknik produksi dan pengembangan. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. Pusat Penelitian dan Pengembangan Pertanian Tanaman Pangan. Hal. 474-497.
- Khalimi, Kh., dan G.N.A.S. Wiryu. 2009. Pemanfaatan plant growth promoting rhizobacteria untuk biostimulants dan bioprotectants. *J. Ecotrophic* 4 (2) : 131-135.
- Kloepper JW *et al.* 1999. Plant root bacterial interaction in biological control of soilborne disease and potential extension to systemic and foliar disease. *Austral Plant Pathol* 28: 21-26.
- Liu Li-Wang, Yan Wang, Yi-Qin Gong, Tong-Min Zhao, Guang Liu, Xiao-Yan Li, Fa-Min Yu. 2007. Assesment of genetic purity of tomato (*Lycopersicum esculentum* L.) hybrid using molekuler markers. *Journal of Scientia Horticulturae* 115 (2007): 7 – 12. [www.elsevier.com](http://www.elsevier.com).
- Macaulay M, L Ramsay, W Powell, R Waugh. 2001. A representative, highlyinformative, 'genotyping set' of barley SSR. *Theor. Appl. Genet.* 102: 801 - 809.
- Pabendon MB, MJ Mejaya, Subandi, M Dahlan. Sidik jari empat varietas jagung hibrida beserta tetuanya berdasarkan marka mikrosatelit. *Zuriat* 2005; 16 (2): 192 – 200.
- Prihartini T. 2009. Mikroorganisme meningkatkan efisiensi pemupukan fosfat. [www.pustakadeptan.go.id/publikasi/wi.303.kdpdf](http://www.pustakadeptan.go.id/publikasi/wi.303.kdpdf).
- Subba-Rao, NS. 2007. Mikroorganisme dan Pertumbuhan Tanaman. UI Press. Jakarta.
- Rodríguez H, R. Fraga. 1999. Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. Department of Microbiology, Cuban Research Institute on Sugarcane By-Products (ICIDCA), Havana, Cuba. <http://www.molecular-plant-biotechnology>.
- Saenong, S. Zubactirodin, Y. Sinuseng, Rahmawati, A. Hipi. 2005. Peluang pengembangan perbenihan berbasis komunal di pedesaan Nusa Tenggara Barat. Pros.Sem.Nas. Balai Besar Pengkajian dan Pengembangan Teknologi Pertanian. Bogor. Mataram Agustus 2005.
- Senior, M.L., J.P. Murphy, M.M. Goodman, and C.W. Stuber. 1998. Utility of SSR for determining genetic similarities and relationships in maize using an agarose gel system. *J. Crop Sci.* 38: 1088 - 1098.
- Silva HAS *et al.* 2004. Rhizobacterial Induction of systemic resistance in tomato plants: non-specific protection and increase in enzyme activities. *Bio Control* 29:288-295.
- Sundstrom, F.J., R.B. Reader, R.L. Edwards, 1987. Effect of seed treatment and planting method on Tabasco pepper. *J. Amer. Soc.Hort. Sci.* 112: 641-4.
- Widayanti T. 2006. Isolasi dan karakterisasi *Bacillus* sp. indigenus penghasil asam indol asetat asal tanah rizosfer [Skripsi]. Dept.Biologi. FMIPA. IPB. Bogor.

Yusepi TT. 2011. Kemampuan aktinomiset endofit dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman padi (*Oryza sativa* L.) melalui aktivitas asam Indol Asetat [Skripsi]. Bogor: Departemen

Biologi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.