

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR GAMBAR	xiii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiv
INTISARI	xvi
<i>ABSTRACT</i>	xvii
I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Permasalahan	1
1.2 Rumusan Masalah.....	7
1.3 Keaslian Penelitian.....	8
1.4 Tujuan Penelitian	10
1.5 Manfaat Penelitian	11
II. TINJAUAN PUSTAKA DAN LANDASAN TEORI	12
2.1 Tinjauan Pustaka.....	12
2.1.1 Ketersediaan Lahan Pertanian dan Lahan Marginal	12
2.1.2 Cekaman Salinitas	13
2.1.3 Pengaruh Cekaman Salinitas pada Tanaman.....	17
2.1.4 Hormon Etilen	20
2.1.5 Tanggapan Mikroba terhadap Cekaman Lingkungan	23
2.1.5.1 pH.....	24
2.1.5.2 Suhu	25
2.1.5.3 Konsentrasi Oksigen (O ₂)	26
2.1.5.4 Logam Berat.....	27
2.1.6 Tanggapan Mikroba terhadap Cekaman Salinitas	27
2.1.7 Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman	32

2.1.7.1 PGPB Penambat Nitrogen	35
2.1.7.2 PGPB Pelarut Fosfat	36
2.1.7.3 PGPB Penghasil IAA	37
2.1.8 Bakteri Penghasil ACCD	38
2.1.9 Enzim ACCD	40
2.1.10 Hubungan Aktivitas ACCD dan Nitrogenase	44
2.1.11 Kedelai (<i>Glycine max</i>)	44
2.1.12 Jalur Metabolisme ACC pada Tanaman dan Bakteri	48
2.2 Landasan Teori.....	50
2.3 Hipotesis Penelitian	57
2.4 Alur Penelitian	58
III. METODE PENELITIAN.....	59
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	59
3.2 Bahan dan Alat Penelitian.....	59
3.2.1 Alat	59
3.2.2 Bahan	59
3.2.2.1 Sumber Isolat dan Kultur Bakteri	59
3.2.2.2 Bahan Kimia	60
3.2.2.3 Biji Kedelai	61
3.3 Cara Kerja	61
3.3.1 Isolasi dan Seleksi Bakteri Penghasil ACCD	61
3.3.1.1 Pengambilan Sampel	61
3.3.1.2 Isolasi dan Purifikasi Bakteri ACCD	61
3.3.2 Seleksi Bakteri ACCD	62
3.3.2.1 Seleksi pada Medium <i>DF salts</i> Padat	62
3.3.2.2 Seleksi pada Medium <i>DF salts</i> Cair	62
3.3.3 Identifikasi Morfologi Bakteri Penghasil ACCD Terpilih	63
3.3.3.1 Pengamatan Morfologi Koloni	63
3.3.3.2 Pengamatan Morfologi Sel	63
3.3.3.2.1 Pewarnaan Sederhana	63
3.3.3.2.2 Pewarnaan Gram	64

3.3.4 Identifikasi Molekuler Bakteri Penghasil ACCD Terpilih	64
3.3.4.1 Amplifikasi Gen 16S rRNA	64
3.3.4.2 Analisis Urutan Basa Nitrogen Gen 16S rRNA	65
3.3.5 Karakterisasi Ekologi dan Fisiologi Bakteri Penghasil ACCD	66
3.3.5.1 Karakterisasi Ekologi	66
3.3.5.1.1 Pengaruh pH terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	66
3.3.5.1.2 Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	66
3.3.5.1.3 Pengujian Aerobisitas Bakteri Penghasil ACCD	67
3.3.5.1.4 Pengujian Toleransi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Salinitas (Garam NaCl)	67
3.3.5.1.4.1 Ketahanan Bakteri Penghasil ACCD terhadap Cekaman Garam	67
3.3.5.1.4.2 Ketahanan Bakteri Penghasil ACCD terhadap Cekaman Garam (Medium <i>DF salts</i> Cair ditambah NaCl dan Sumber Nitrogen AIB	67
3.3.5.2 Karakterisasi Fisiologi	68
3.3.5.2.1 Aktivitas ACCD	68
3.3.5.2.1.1.Ekstraksi Protein Sitoplasmik	68
3.3.5.2.1.2 Pengukuran Aktivitas ACCD	69
3.3.5.2.2 Pengujian Aktivitas Nitrogenase dengan Metode ARA (<i>Acetylene Reduction Assay</i>)	70
3.3.5.2.3 Pengujian Aktivitas Pelarutan Fosfat (P)	71
3.3.5.2.4 Pengujian Aktivitas Penghasilan IAA	71
3.3.5.2.5 Pengujian Penggunaan Sumber Karbon untuk Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	72
3.3.5.2.6 Pengujian Daya Antagonistik Bakteri Penghasil ACCD terhadap Bakteri Patogen <i>Xanthomonas</i> <i>oryzae</i> pv. <i>oryzae</i> dan <i>Ralstonia solanacearum</i>	72
3.3.5.2.7 Pengujian Toleransi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Logam Berat Cr ⁶⁺	73
3.3.5.2.8 Pengujian Resistensi Isolat terhadap Antibiotik	73
3.3.6. <i>Bioassay</i> Peran Bakteri Penghasil ACCD pada Perkecambahan Kedelai	74

3.3.6.1	Persiapan Inokulum Bakteri Penghasil ACCD Terpilih	74
3.3.6.2	Persiapan Biji Kedelai (<i>Glycine max</i>)	74
3.3.6.3	Persiapan Media Uji	74
3.3.6.4	Percobaan <i>in vitro</i> pada Fitotron	75
3.3.6.5	Pengukuran Produksi Etilen Tanaman dengan Kromatografi Gas	75
3.3.6.6	Pengukuran Produksi α -ketobutirat pada Jaringan Tanaman	76
3.3.6.7	Pengujian <i>Classical Triple Response</i>	76
3.3.6.8	Pengukuran Persentase Perkecambahan	77
3.3.6.9	Ekstraksi Pigmen	78
3.3.6.10	Kolonisasi Bakteri Penghasil ACCD pada Biji Kedelai yang diinokulasi	78
3.3.6.11	Analisis Data	79
IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN	80
4.1	Hasil Isolasi	80
4.2	Seleksi Isolat Bakteri Secara Kualitatif	84
4.2.1	Pertumbuhan Isolat Bakteri pada Medium <i>DF salts</i> Padat	84
4.2.2	Pertumbuhan Isolat Bakteri pada Medium <i>DF salts</i> Cair	87
4.3	Identifikasi Bakteri	89
4.3.1	Morfologi Koloni dan Sel	89
4.3.2	Identifikasi Molekuler	90
4.4	Karakterisasi Bakteri Penghasil ACCD	96
4.4.1	Karakterisasi Ekologi	96
4.4.1.1	Pengaruh pH pada Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	97
4.4.1.2	Pengaruh Suhu pada Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	98
4.4.1.3	Pengujian Aerobisitas Bakteri Penghasil ACCD	99
4.4.1.4	Ketahanan Bakteri Penghasil ACCD terhadap Cekaman Salinitas (Garam NaCl)	100

4.4.1.4.1 Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD pada Medium <i>DF salts</i> Padat Ditambah (NH ₄) ₂ SO ₄ dengan Variasi Konsentrasi NaCl	101
4.4.1.4.2 Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD pada Medium <i>DF salts</i> Cair Ditambah AIB dengan Variasi Konsentrasi NaCl	103
4.4.2 Karakterisasi Fisiologi	105
4.4.2.1 Aktivitas ACCD Bakteri Penghasil ACCD	105
4.4.2.2 Aktivitas Nitrogenase Bakteri Penghasil ACCD	110
4.4.2.3 Aktivitas Pelarutan Fosfat	112
4.4.2.4 Produksi IAA Bakteri Penghasil ACCD	113
4.4.2.5 Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	115
4.4.2.6 Aktivitas Antagonisme	118
4.4.2.7 Pengaruh Cr ⁶⁺ terhadap Pertumbuhan Bakteri ACCD	120
4.4.2.8 Resistensi Antibiotik	121
4.5 Peran Bakteri ACCD terhadap Pertumbuhan Kecambah Kedelai pada Kondisi Cekaman Salinitas.....	123
4.5.1 Pengaruh Bakteri ACCD terhadap Produksi Etilen pada Kondisi Cekaman Salinitas	125
4.5.2 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap Produksi α -ketobutirat pada Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas.....	128
4.5.3 Pengaruh Bakteri ACCD terhadap Persentase Perkecambahan Biji Kedelai yang Tercekam Salinitas	131
4.5.4 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap <i>Triple Response</i> pada Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas	133
4.5.5 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap Kandungan Pigmen Daun Tanaman Kedelai yang Tercekam Salinitas.....	138
4.5.6 Kolonisasi Bakteri Endofit Penghasil ACCD pada Biji Kedelai yang Diinokulasi.....	141
V. DISKUSI UMUM	142
VI. KESIMPULAN DAN SARAN	146
6.1. Kesimpulan	146
6.2. Saran.....	147
DAFTAR PUSTAKA	148
LAMPIRAN.....	175

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Perbandingan Penelitian yang Pernah Dilakukan Peneliti Terdahulu dengan Penelitian untuk Penyusunan Disertasi ini	9
Tabel 2.1 Hubungan antara Satuan Konduktivitas Listrik (EC) dan Konsentrasi Garam NaCl	16
Tabel 2.2 Pengaruh Tingkat Salinitas pada Tanaman	18
Tabel 2.3 Toleransi Mikroba terhadap NaCl.....	29
Tabel 2.4 Mikroba Penghasil ACCD	53
Tabel 2.5 Daftar Mikroba Penghasil ACCD dan Aktivitasnya.....	54
Tabel 4.1 Hasil Isolasi Bakteri dari Beberapa Komoditas Tanaman	81
Tabel 4.2 Pertumbuhan Kualitatif Isolat Terpilih pada Medium <i>DF Salts</i> Ditambah Sumber Nitrogen, Amonium Sulfat, AIB dan ACC.....	85
Tabel 4.3 Laju Pertumbuhan Spesifik Isolat Bakteri pada Medium Minimal <i>DF salts</i> Cair Ditambah Sumber Nitrogen	88
Tabel 4.4 Morfologi Koloni dan Sel	90
Tabel 4.5 Hasil Identifikasi Berdasarkan Sekuen Gen 16S rRNA.....	92
Tabel 4.6 Pengaruh pH pada Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD	97
Tabel 4.7 Sifat Aerobisitas Bakteri ACCD	100
Tabel 4.8 Pertumbuhan Bakteri ACCD pada Medium <i>DF salts</i> Padat dengan Berbagai Konsentrasi NaCl.....	102
Tabel 4.9 Pertumbuhan Kualitatif Bakteri Penghasil ACCD pada Medium <i>DF Salts</i> Ditambah AIB dengan Berbagai Konsentrasi NaCl.....	103
Tabel 4.10 Aktivitas Nitrogenase Strain Bakteri Penghasil ACCD.....	110
Tabel 4.11 Indeks Pelarutan Fosfat Bakteri Penghasil ACCD	113
Tabel 4.12 Daya Antagonistik Bakteri CCD terhadap Bakteri Patogen	119
Tabel 4.13 Pengaruh Konsentrasi Cr ⁶⁺ terhadap Pertumbuhan Bakteri ACCD...	121
Tabel 4.14 Resistensi Antibiotik Strain Bakteri Penghasil ACCD	123
Tabel 4.15 Rekapitulasi Karakter Bakteri Penghasil ACCD	124
Tabel 4.16 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Penurunan Produksi Etilen Biji Kedelai pada Beberapa Konsentrasi NaCl	127
Tabel 4.17 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Perkecambahan Biji Kedelai pada Beberapa Konsentrasi NaCl	133
Tabel 4.18 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap Kandungan Klorofil a, b, dan Karotenoid Daun Tanaman Kedelai	140

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Biosintesis Etilen pada Tanaman	22
Gambar 2.2 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap Produksi Etilen pada Tanaman dengan Cekaman Lingkungan.....	23
Gambar 2.3 Contoh Senyawa Osmolit.....	31
Gambar 2.4 Reaksi Hidrolisis ACC oleh Enzim ACCD	41
Gambar 2.5 Struktur Kimia ACC dan AIB.....	42
Gambar 2.6 Struktur Kimia α -Ketobutirat; Reaksi 2,4 DNPH dengan Senyawa Keton.....	43
Gambar 2.7 Pengaruh Salinitas terhadap Hasil Produksi Beberapa Jenis Tanaman.....	46
Gambar 2.8 Skema Pengontrolan Produksi Etilen di dalam Jaringan Tanaman oleh Bakteri Penghasil ACCD	50
Gambar 2.9 Bagan Alur Penelitian	58
Gambar 4.1 Pertumbuhan Bakteri pada Medium TSB dengan Variasi Suhu	98
Gambar 4.2 Aktivitas ACCD Strain Bakteri Penghasil ACCD	106
Gambar 4.3 Produksi IAA Bakteri Penghasil IAA	114
Gambar 4.4 Pengaruh Sumber Karbon terhadap Pertumbuhan Bakteri Penghasil ACCD.....	116
Gambar 4.5 Pengaruh Bakteri Penghasil ACCD terhadap Produksi α -ketobutirat pada Kecambah Tercekam Salinitas	130
Gambar. 4.6 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Tinggi Batang Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas (NaCl).....	136
Gambar 4.7 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Panjang Akar Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas (NaCl).....	136
Gambar 4.8 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Diameter Batang Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas (NaCl)	137
Gambar 4.9 Pengaruh Inokulasi Bakteri Penghasil ACCD terhadap Berat Kering Kecambah Kedelai yang Tercekam Salinitas (NaCl).....	137
Gambar 4.10 Penampakan Makro Biji Kedelai	141

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Komposisi Kimia Medium Pertumbuhan Bakteri dan Medium Pengujian.....	175
Lampiran 2 Deskripsi Sumber Isolat dan Cekaman Lingkungan	176
Lampiran 3 Distribusi Curah Hujan Bulan September-Oktober tahunn 2014 di Jawa Tengah.....	177
Lampiran 4 Distribusi Curah Hujan Bulan September-Oktober tahunn 2014 di Daerah Istimewa Yogyakarta	178
Lampiran 5 Peta Bahaya Kekeringan Kabupaten Kulonprogo, DIY	179
Lampiran 6 Data Uji Aktivitas ACCD secara Kualitatif	180
Lampiran 7. Foto Hasil Pengecatan Gram Isolat Bakteri Terpilih.....	183
Lampiran 8. Foto Morfologi Koloni Isolat Bakteri Terpilih.....	184
Lampiran 9. Hasil Elektroforesis Amplikon Gen 16S rRNA	185
Lampiran 10.a. Urutan Basa 16S rRNA Isolat BK1	185
Lampiran 10.b. Urutan Basa 16S rRNA Isolat CB2	186
Lampiran 10.c. Urutan Basa 16S rRNA Isolat CK4	187
Lampiran 10.d. Urutan Basa 16S rRNA Isolat KD6.2.....	188
Lampiran 10.e. Urutan Basa 16S rRNA Isolat KW3	189
Lampiran 10.f. Urutan Basa 16S rRNA Isolat TW7.....	190
Lampiran 10.g. Urutan Basa 16S rRNA Isolat KS12	191
Lampiran 10.h. Urutan Basa 16S rRNA Isolat KS16.2	192
Lampiran 10.i. Urutan Basa 16S rRNA Isolat PIR3C	193
Lampiran 10.j. Urutan Basa 16S rRNA Isolat PIR5	194
Lampiran 10.k. Urutan Basa 16S rRNA Isolat PIC5	195
Lampiran 10.l. Urutan Basa 16S rRNA Isolat PCM8.....	196
Lampiran 11. Pohon Filogenetik.....	197
Lampiran 12. Kurva Standar BSA	198
Lampiran 13. Hasil Konsentrasi Protein Sitoplasma	198
Lampiran 14. Hasil Uji Normalitas Konsentrasi Protein Sitoplasma	199
Lampiran 15 Hasil Paired T-Test Konsentrasi Protein Sitoplasma dengan dan Tanpa Induksi AIB.....	200
Lampiran 16. Perbedaan Warna pada Konsentrasi Ketobutirat yang Berbeda.....	200

Lampiran 17. Kurva Standar Ketobutirat.....	201
Lampiran 18. Hasil Normalitas Aktivitas ACCD	201
Lampiran 19. Hasil ANOVA Aktivitas ACCD.....	202
Lampiran 20. Analisis Duncan Aktivitas ACCD.....	202
Lampiran 21. Hasil Paired T-Test Aktivitas ACCD strain Bakteri dengan Kontrol Positif	203
Lampiran 22. Kurva Standar Etilen	203
Lampiran 23. Hasil Normalitas Aktivitas Nitrogenase	204
Lampiran 24. Hasil ANOVA Aktivitas Nitrogenase	204
Lampiran 25. Analisis Duncan Aktivitas Nitrogenase.....	205
Lampiran 26. Hasil Paired T-Test Aktivitas Nitrogenase dengan Kontrol Positif	205
Lampiran 27. Kromatogram Uji ARA (Gas Standar)	206
Lampiran 28. Kromatogram Uji ARA (Sampel).....	206
Lampiran 29. Data Uji Antibiotik	207
Lampiran 30. Konsentrasi Protein Sitoplasma dengan dan tanpa Induksi AIB...	208
Lampiran 31. Pengaruh Suhu terhadap Pertumbuhan Bakteri	208
Lampiran 32. Uji Aerobisitas	208
Lampiran 33. Karakterisasi Fisiologi Bakteri Penghasil ACCD	209
a. Uji Kemampuan Pelarutan Fosfat	209
b. Pengaruh Penggunaan Sumber Karbon untuk Pertumbuhan Bakteri	210
c. Daya Antagonistik Bakteri	210