

**PENGARUH PEMBERIAN DOSIS DAN FREKUENSI *BIOFERTILIZER*  
TERHADAP KADAR KLOROFIL DAUN BIBIT SENGON  
(*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen)**

**THE EFFECT OF DOSES AND FREQUENCY OF BIOFERTILIZER ON  
THE CHLOROPHYLL CONTENT IN SILK TREE LEAVES  
(*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen)**

Dwimei Ayudewandari Pranatami, Sekar Arum

Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri  
dwimei\_ayudewandari@yahoo.com

**Abstrak**

Klorofil merupakan komponen penting yang dibutuhkan dalam fotosintesis, dimana pembentukannya diperlukan suplai zat hara seperti nitrogen dan fosfat. Suplai zat hara tersebut dapat dibantu dengan pemberian *biofertilizer* yang mengandung bakteri fiksasi nitrogen, bakteri pelarut fosfat dan mikroba dekomposer. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh dosis dan frekuensi pemberian *biofertilizer* terhadap kadar klorofil bibit sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen). Penelitian terdiri atas 2 perlakuan kontrol dan 8 perlakuan uji. Seri dosis *biofertilizer* yaitu 20, 40, 60, dan 80 mL/tanaman dengan frekuensi pemberian 1 minggu sekali dan 2 minggu sekali. Mikroba dalam *biofertilizer* terdiri atas *Azotobacter chroococum*, *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium leguminosarum*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Cellvibrio mixtus*, *Cellulomonas cellulans*, *Cytophaga saccharophila*, *Lactobacillus plantarum*, dan *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) dan data dianalisis menggunakan uji ANAVA satu arah dengan uji lanjutan yaitu uji Duncan dan uji *Brown –Forsythe* serta uji *Gomes Howell* pada taraf 5%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pemberian dosis dan frekuensi *biofertilizer* berpengaruh nyata dalam peningkatan kadar klorofil daun. Pada K+f1 ( $65.28 \pm 1.07$  mg/L) menunjukkan kadar klorofil tertinggi dan berpengaruh secara signifikan dibanding dengan lainnya, urutan tertinggi dibawahnya adalah B80f1 ( $61.33 \pm 1.26$  mg/L) dengan perbedaan nilai yang relatif kecil. Peningkatan kadar klorofil tersebut dikarenakan adanya suplai N dan fosfat.

Kata kunci : *biofertilizer*, kadar klorofil, sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen).

**Abstract**

Chlorophyll is an important component needed in photosynthesis in which its formation is necessary for nutrients such as nitrogen and phosphate. Such nutrient supply may be assisted by the administration of biofertilizers containing nitrogen fixation bacteria, bacterial solvent phosphate and decomposer microbes. This study aims to determine the effect of dosage and frequency of biofertilizer administration on chlorophyll content of sengon seedlings (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen). The study consisted of 2 control treatments and 8 test treatments. Series of biofertilizer doses are 20, 40, 60, and 80 mL / plant with the frequency of once a week and once every 2 weeks. Microbes in the biofertilizer consist of *Azotobacter chroococum*, *Azospirillum brasilense*, *Rhizobium leguminosarum*, *Bacillus subtilis*, *B. megaterium*, *B. licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens*, *P. putida*, *Cellvibrio mixtus*, *Cellulomonas cellulans*, *Cytophaga saccharophila*, *Lactobacillus plantarum*, and *Saccharomyces cerevisiae*. This study used a complete randomized design (RAL) and the data were analyzed using one-way ANOVA test with continued test of Duncan test and Brown-Forsythe test with Gomes Howell's advanced test at 5% level. The results showed that the dosage and frequency of biofertilizer did not significantly affect the increase of leaf chlorophyll content. At K + f1 ( $65.28 \pm 1.07$  mg / L) showed the highest chlorophyll content and significantly influenced compared to others, the highest sequence was B80f1 ( $61.33 \pm 1.26$  mg / L) with relatively small value difference. Increased levels of chlorophyll is due to the supply of N and phosphate.

Keywords: biofertilizer, chlorophyll content, sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen).

**PENDAHULUAN**

Peningkatan kualitas tumbuhan dapat diupayakan dengan penggunaan mikroba tanah dalam membantu penyediaan nitrat, fosfat dan kalium serta unsur hara lainnya. Pupuk hayati semakin diperlukan karena pemakaian pupuk kimia selama ini mengakibatkan dampak yang kurang menguntungkan misalnya dapat menyebabkan pencemaran tanah sehingga tanah menjadi pekat, terjadi akumulasi P, keadaan mikrobiologi tanah buruk, dan menurunkan pH

tanah (Syaifudin dkk., 2010). *Biofertilizer* (pupuk hayati) berfungsi untuk membantu penyediaan hara bagi tanaman dan mempermudah penyerapan hara bagi tanaman yang sebagian besar unsur-unsur hara tersebut digunakan untuk proses fisiologis tanaman (Ermina, 2010). Selain itu juga membantu dekomposisi bahan organik dan menyediakan lingkungan rhizosfer yang lebih baik sehingga pada akhirnya akan mendukung pertumbuhan tanaman sehingga bisa disebut sebagai rhizobakteri (Sutedjo dkk., 1991).

Menurut Meirina *et al.* (2011), penambahan unsur hara dari penambahan inokulan mikroba dapat meningkatkan unsur hara di dalam tanah. Pernyataan ini sesuai dengan pendapat Widawati dan Suliasih (2006) yang menyatakan bahwa pemberian inokulan bakteri sebagai pupuk hayati akan menaikkan populasi bakteri yang dapat melarutkan fosfat terikat dalam tanah dan menambat nitrogen dari udara. Populasi mikroba di dalam tanah dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu macam zat hara, nutrisi, pH, dan suhu (Budiyanto, 2004). Hasil penelitian Yusran *dkk.* (2012) membuktikan bahwa pengaruh pemberian pupuk hayati yang menguntungkan dari jenis cendawan *Trichoderma harzianum* dan jenis bakteri *Pseudomonas fluorescens*, dan *Bacillus* sp. mampu meningkatkan pertumbuhan tinggi dan jumlah anak daun sengon. *Bacillus* sp. dan *Pseudomonas* sp. dilaporkan sebagai biofertilizer karena kelompok bakteri ini menghasilkan hormon tumbuh (Backman *et al.* 1994).

Klorofil termasuk faktor utama yang mempengaruhi fotosintesis. Fotosintesis merupakan proses perubahan senyawa anorganik (CO<sub>2</sub> menjadi senyawa organik/karbohidrat) dan O<sub>2</sub> dan H dengan bantuan cahaya matahari. Tiga fungsi utama klorofil dalam proses fotosintesis adalah memanfaatkan energi matahari, memicu fiksasi CO<sub>2</sub> untuk menghasilkan karbohidrat dan menyediakan energi bagi ekosistem secara keseluruhan. Nitrogen merupakan unsur pokok pembentuk protein dan penyusun utama protoplas, kloroplas, dan enzim. Dalam kegiatan sehari-hari peran nitrogen berhubungan dengan proses fotosintesis dan respirasi (Suwahyono, 2011). Klorofil dapat dijadikan indikator yang sensitif pada kondisi fisiologis suatu tumbuhan karena kandungan klorofil berkorelasi positif dengan kandungan nitrogen daun, sehingga dapat dijadikan indikator laju fotosintesis (Sampson *et al.*, 2003).

Berdasarkan uraian tersebut maka perlu dilakukan penelitian mengenai penggunaan konsorsium biofertilizer pada tanaman sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) terhadap kadar klorofil. Tujuan dari penelitian ini adalah apakah dosis dan frekuensi pemberian biofertilizer yang berbeda berpengaruh terhadap kadar klorofil daun bibit sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen). Diharapkan nantinya jika pemberian biofertilizer ini berdampak baik pada kadar klorofil maka juga akan meningkatkan laju fotosintesis.

## METODE

### Bahan dan Alat penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bibit sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) umur 2 bulan dari Tani Sejahterah, Desa Tanjung Kalang, Prambon, Nganjuk. Selain itu media tanam yaitu tanah taman dan konsorsium mikroba yang terdiri dari 3 isolat mikroba penambat nitrogen, yaitu bakteri *Azospirillum brasilense*, *Azotobacter*

*chroococum*, dan *Rhizobium leguminosarum*; 5 isolat mikroba pelarut fosfat, yaitu bakteri *Bacillus licheniformis*, *B. subtilis*, *B. megaterium*, *Pseudomonas fluorescens*, dan *P. putida*; dan 5 isolat mikroba pendegradasi bahan organik, yaitu *Cellvibrio mixtus*, *Cellulomonas cellulans*, *Lactobacillus plantarum*, *Cytophaga saccharophila*, dan khamir *Saccharomyces cerevisiae*. Media pertumbuhan yang digunakan untuk mikroba ini adalah NA (Nutrient Agar) (Oxoid), NB (Nutrient Broth) (Oxoid), PDA (Potato Dextrose Agar) (Oxoid), akuades, glukosa, molase 3%, alkohol, spiritus, dan NPK (Phonska). Sedangkan media untuk menghitung jumlah populasi mikroba adalah MRS Agar, Nfb (Nitrogen-fixing bacteria yang terdiri atas asam malat 0,5 g; KOH 0,4 g; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 0,05 g; FeSO<sub>4</sub> 0,005 g; MnSO<sub>4</sub> 0,001 g; MgSO<sub>4</sub> 0,01 g; NaCl 0,002 g; CaCl<sub>2</sub> 0,002 g; Na<sub>2</sub>MoO<sub>2</sub> 0,001 g; bromotimol biru 0,5% dalam alkohol 95% sebanyak 0,3 mL, agar 0,175 g serta 100 mL akuades), media Pikovskaya (yang terdiri atas glukosa 0,1 g; Ca<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,5g; KCl 0,02 g; MgSO<sub>4</sub> 0,01 g; MnSO<sub>4</sub> 0,01 g; FeSO<sub>4</sub> 0,01 g; yeast extract 0,05 g; (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,05 g; agar 0,12 g serta 100 mL akuades), CMC Agar (Carboxy Methyl Cellulose terdiri CMC 1 g, KNO<sub>3</sub> 0,075 g, MgSO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0,02 g, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,05 g FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,002 g, CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 0,004 g dan Yeast 0,05 gr serta 100 mL akuades).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain autoclave (OSK 6500, ALP Co. Ltd), Laminar Air Flow (ESCO), shaker (GFL), spektrofotometer (Wilton Roy Company), timbangan analitik (Shimadzu), timbangan digital, colony counter (Galaxy 230), botol kaca (250 mL dan 500 mL), labu Erlenmeyer (Pyrex), Petri dish, tabung reaksi (Pyrex), bunsen, jarum ose, pipet ukur (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), gelas beaker (Duran), kertas label, aluminium foil, tisu, cling wrap, kapas, alat vortex, gelas obyek, cover glass, baskom, baki, kompor listrik, dan jerigen. Sedangkan alat yang digunakan di lahan pekarangan adalah polybag ukuran 15 x 15 cm, cangkul, meteran, penggaris, ember, dan kamera digital.

### Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan perlakuan variasi dosis dan frekuensi pemberian biofertilizer. Terdapat 11 macam perlakuan untuk pemberian biofertilizer yang menggunakan dosis 20, 40, 60, dan 80 (mL/tanaman) dengan frekuensi yang berbeda yaitu 1 kali dalam 1 minggu dan 1 kali dalam 2 minggu. Untuk kontrol berarti tanpa pemberian biofertilizer adalah kontrol negatif, sedangkan penambahan NPK 0.5 g/tanaman sebagai kontrol positif. Terdapat pengulangan sebanyak 4 kali setiap perlakuan. Dalam mempersingkat penyebutan maka akan digunakan singkatan sebagai berikut: K- : Tanpa pemberian biofertilizer, K+ : Pupuk NPK 0.5 g/tanaman, B20 : Biofertilizer dengan dosis 20 mL/tanaman, B40 : Biofertilizer dengan dosis 40 mL/tanaman, B60 : Biofertilizer dengan dosis 60 mL/tanaman, B80 :

Biofertilizer dengan dosis 80 mL/tanaman, f1 : Frekuensi pemberian 1 kali dalam 1 minggu, f2 : Frekuensi pemberian 1 kali dalam 2 minggu.

#### **Persiapan media, peremajaan isolat mikroba dan inokulasi mikroba**

Peremajaan isolat mikroba terlebih dahulu dilakukan dengan cara menyiapkan media NA *slant agar* untuk kelompok bakteri dan media PDA *slant agar* untuk kelompok fungi dalam tabung reaksi. Pembuatan media NA dilakukan dengan melarutkan 2,8 g NA ke dalam akuades hingga bervolume 100 mL. Untuk media PDA sebanyak 3,9 g dilarutkan ke dalam akuades hingga bervolume 100 mL. Peremajaan isolat mikroba ke media *slant agar* dilakukan dengan cara satu ose biakan mikroba dari kultur murni ditanam dengan metode *streak* ke dalam media *slant agar*

Media NB + glukosa 1% dibuat dengan komposisi, 3,25 g NB dan 2,5 g glukosa dilarutkan ke dalam akuades 250 mL pada gelas beaker. Setelah itu, larutan media tersebut dimasukkan ke dalam botol bervolume 500 mL lalu ditutup dengan kapas dan *aluminium foil* dan disterilkan selama 15 menit. Setelah media NB steril, langkah selanjutnya adalah dilakukan inokulasi mikroba dari media *slant agar* ke media *broth* 250 mL pada suhu ruang sambil *dishaker*.

#### **Penentuan jumlah koloni mikroba dengan metode turbiditas dan TPC (*Total Plate Count*)**

Tabung reaksi yang berisi akuades steril (tiap tabung berisi 9 mL) disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit. Untuk mengetahui turbiditasnya maka dilakukan dengan menghitung nilai OD dari kultur murni dengan menggunakan spektrofotometer. Terlebih dahulu ditetapkan nilai OD awal dengan blanko NB. Kemudian 5 mL dari masing-masing inokulum mikroba 250 mL dimasukkan ke dalam tabung kuvet untuk diukur absorbansinya dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 600$  nm. Dari inokulum mikroba 250 mL tersebut, kemudian dilakukan seri pengenceran hingga  $10^9$ . Seri pengenceran dilakukan dengan cara 1 mL mikroba dari inokulum mikroba 250 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi akuades 9 mL berlabel  $10^{-1}$  lalu dihomogenkan dengan menggunakan alat *vortex* selama 1 menit. Begitu seterusnya hingga pengenceran ke-9. Pada pengenceran ke-6, 7, dan 8 diambil 1 mL kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri. Setelah itu, menuangkan media selektif sesuai peran mikroba sebanyak 15 mL. Untuk bakteri *Lactobacillus plantarum* menggunakan media MRS Agar, mikroba pelarut fosfat adalah Pikovskaya dan mikroba pendegradasi bahan organik adalah media agar CMC. Setelah itu, dihomogenkan dengan cara memutar cawan Petri dengan bentuk putaran membentuk angka delapan dan dibiarkan hingga memadat. Lalu cawan Petri diisolasi dengan menggunakan *cling wrap* dan diinkubasi pada suhu 37C selama 1 kali 24 jam. Selanjutnya, jumlah koloni bakteri dihitung dengan metode *Total Plate*

*Count* (TPC) dengan menggunakan *colony counter*. Menurut Nersser (1895), jumlah koloni yang diambil harus berkisar antara 30 – 300 koloni (Anonim, 2014). Setelah itu, dikalikan dengan seper faktor pengenceran dan satuan jumlah koloni yang digunakan adalah CFU/mL.

#### **Penghitungan MPN (*Most Probable Number*)**

Metode MPN ini digunakan untuk perhitungan bakteri kelompok penambat nitrogen. Menyiapkan botol pengenceran 250 mL yang berisikan akuades 90 mL dan tabung reaksi yang berisikan media Nfb, lalu disterilisasi dalam *autoclave* selama 15 menit. Kemudian dari inokulum mikroba 250 mL tersebut, dilakukan seri pengenceran hingga  $10^{-9}$ . Metode pengenceran dilakukan dengan cara 10 mL mikroba dari inokulum mikroba 250 mL dimasukkan ke dalam botol kaca yang berisi akuades 90 mL berlabel  $10^{-1}$  lalu dihomogenkan dengan menggunakan alat *vortex* selama 1 menit. Begitu seterusnya hingga pengenceran ke-9. Metode MPN menggunakan tabung seri 3-3-3. Pada hasil pengenceran ke-6, diambil 10 mL, 1 mL, dan 0,1 mL pada setiap tabung seri. Kemudian diisolasi dengan menggunakan *cling wrap* dan mengiinkubasi pada suhu ruang sekitar 5 x 24 jam.

#### **Pembuatan starter pupuk hayati (*biofertilizer*) dan perhitungan kuantitas mikroba**

Pembuatan starter terlebih dahulu menyiapkan larutan molase 3% untuk setiap mikroba dengan cara molase 6 mL dilarutkan ke dalam akuades hingga volume menjadi 200 mL. Larutan molase yang telah jadi dimasukkan ke dalam botol bervolume 500 mL, kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit dengan tekanan 1 atm. Setelah itu, dibiarkan hingga dingin pada suhu ruang. Lalu dari inokulum mikroba 200 mL (F2) dicampur dengan larutan molase 3% sebanyak 200 mL sehingga volume total *starter* menjadi 400 mL (F340 ). Dari semua inokulum mikroba 400 mL (F3) tersebut dicampur ke dalam jirigen menjadi 5200 mL dan ditambahkan media molase 3% sebanyak 9800 mL (akuades 9506 mL, molase 294 mL) hingga totalnya menjadi 15000 mL kemudian dihomogenkan dan didiamkan selama 5 hari (F4). Setelah di homogenkan, *biofertilizer* dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu: 20, 40, 60, dan 80 mL/tanaman

Terlebih dahulu dilakukan perhitungan menggunakan metode TPC dengan media selektif, sebelum *biofertilizer* diaplikasikan langsung pada tanaman. Penggunaan media selektif ini berfungsi untuk menumbuhkan ketiga kelompok mikroba yaitu dengan mencawakan pengenceran ke 6, 7,8 ke media CMC Agar untuk kelompok mikroba pendegradasi bahan organik, dan media Pikovskaya untuk kelompok bakteri pelarut fosfat. Lalu untuk mikroba pemfiksasi nitrogen dihitung dengan metode *Most Probable Number* (MPN) menggunakan media Nfb. Jumlah sel bakteri penambat nitrogen dapat dicocokkan dengan

tabel Mc. Grady. Adanya bakteri penambat nitrogen ditunjukkan dengan terbentuknya folikel atau selaput putih. Selain itu terjadi perubahan warna menjadi biru yang menunjukkan bahwa adanya aktivitas nitrogenase.

### Analisis tanah

Sebelum tanah diletakkan di dalam *polybag*, terlebih dahulu penghitungan populasi mikroba tanah menggunakan metode TPC dan MPN pada media selektif. Media selektif digunakan untuk untuk menumbuhkan ketiga kelompok mikroba, yaitu mikroba penambat nitrogen, mikroba pelarut fosfat, dan mikroba dekomposer. Metode penghitungan ini dilakukan dengan cara mencawakan pengenceran ke-3, 4, dan 5 ke dalam media agar CMC, Pikovskaya dan mikroba penambat nitrogen dengan menggunakan media Nfb dihitung dengan metode MPN (*Most Probable Number*) dengan cara mengambil sampel pada pengenceran ke-1 lalu dimasukkan ke media Nfb *semisolid* pada tabung reaksi. Jumlah tabung positif disesuaikan dengan tabel McCrady. Tabung positif ditandai dengan terbentuknya pelikel putih dan warna biru pada permukaan media. Populasi mikroba ditentukan dalam satuan MPN/100 mL suspensi. Dan analisis tanah juga ini dilakukan setelah perlakuan.

### Perlakuan tanaman

Sebelum perlakuan, dilakukan persiapan media tanam dengan cara memindahkan bibit tanaman sengan ke *polybag* yang berukuran 15 x 15 cm yang telah berisi tanah taman seberat 4kg/ *polybag*. Pemberian *biofertilizer* 20, 40, 60, dan 80 mL/tanaman dengan waktu frekuensi 1 kali dalam 1 minggu diberikan pada perlakuan ke-3, 4, 5, dan 6. Sedangkan untuk frekuensi 1 kali dalam 2 minggu diberikan pada perlakuan ke-8, 9, 10, dan 11. Tiap perlakuan memiliki 4 kali pengulangan.

### Perhitungan kadar klorofil daun

Perhitungan kadar klorofil dengan menggunakan spektrofotometer dilakukan setiap 4 minggu sekali. Daun yang diambil adalah daun nomor 3 dari bawah (Hendriyani dkk, 2009). Menimbang 1 g dan digerus dalam mortar dengan pelarut alkohol 95% sebanyak 20 ml. Alkohol 95% berfungsi untuk melarutkan klorofil. Setelah klorofil larut dalam alkohol 95% disentrifugasi selama 10 menit dengan kecepatan 500 rpm. Dalam spektrofotometer ini terdapat 2 tabung cuvet, tabung cuvet 1 berisi alkohol 95% sebagai blanko dan tabung cuvet 2 berisi ekstrak klorofil. Absorbansi larutan ekstrak klorofil ini menggunakan panjang gelombang 649 nm dan 665 nm (Purnobasuki, 2012). Setelah kadar klorofil diketahui, selanjutnya dapat dihitung kadar klorofil total dengan menggunakan turunan rumus (Winstermans dan Mots, 1965 dalam Purnobasuki, 2012).

### Analisis Data

Data yang telah didapatkan dari pertumbuhan tanaman sengan kemudian ditampilkan dalam bentuk tabel pengumpulan data. Data statistik yang diperoleh dalam penelitian ini kemudian dianalisis dengan menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Uji yang dilakukan uji adalah *Kolmogrov-Smirnov* untuk mengetahui normalitas data, kemudian uji *Levene test* untuk mengetahui homogenitas data. Jika data berdistribusi normal dan homogen maka diuji dengan menggunakan ANAVA (Analisis Varian) satu arah (*One Way Anova*) dengan derajat signifikan 5%. Bila data normal dan homogen memiliki pengaruh nyata

maka dilanjutkan dengan uji DMRT (*Duncan's Multiple Range Test*) untuk membandingkan antar perlakuan. Bila data normal dan tidak homogen maka diuji dengan uji *Games-Howell*. Bila data tidak normal dan tidak homogen maka diuji dengan menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan jika berpengaruh maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

$$\text{Klorofil total (mg/L)} = (20,0 \times \text{OD649}) + (6,1 \times \text{OD665})$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil analisis jumlah total mikroba *biofertilizer* dan mikroba tanah

Penghitungan jumlah total tiap mikroba *biofertilizer* dan mikroba tanah dilakukan dengan metode TPC dan MPN. Berikut ini (tabel.1) merupakan jumlah total tiap mikroba, mikroba tanah sebelum perlakuan (tabel.2), dan mikroba tanah *polybag* setelah perlakuan (tabel.3).

**Tabel 1.** Jumlah total mikroba *biofertilizer*

No.	Species mikroba	Jenis media	Nilai absorbansi pada $\lambda = 600\text{nm}$	Jumlah total mikroba (CFU/mL)	Jumlah total mikroba (MPN/100mL)
1.	<i>Bacillus subtilis</i>	Pikovskaya	1	$1.9 \times 10^{11}$	
2.	<i>B. megaterium</i>	Pikovskaya	1	$8.1 \times 10^{10}$	
3.	<i>B. licheniformis</i>	Pikovskaya	1	$5.4 \times 10^{10}$	
4.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Pikovskaya	0.9	$6.6 \times 10^9$	
5.	<i>P. putida</i>	Pikovskaya	1	$2.2 \times 10^{10}$	
6.	<i>Cellvibrio mixtus</i>	CMC	1	$3.8 \times 10^{10}$	
7.	<i>Cellulomonas cellulans</i>	CMC	1	$2.1 \times 10^9$	
8.	<i>Cytophaga saccharophila</i>	CMC	1	$1.6 \times 10^8$	
9.	<i>Lactobacillum plantarum</i>	MRSA	1	$3.5 \times 10^{11}$	
10.	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	PDA	1	$3.4 \times 10^{10}$	
11.	<i>Azotobacter chroococum</i>	Nfb	1		$1.5 \times 10^7$
12.	<i>Azospirillum brasilense</i>	Nfb	0.8		$1.4 \times 10^7$
13.	<i>Rhizobium leguminosarum</i>	Nfb	1		$2.0 \times 10^7$

**Tabel 2.** Jumlah total mikroba tanah sebelum perlakuan

Sampel	Jumlah total mikroba fungsional		
	Mikroba dekomposer pada media agar CMC (CFU/mL)	Mikroba pelarut posfat pada media agar Pikovskaya (CFU/mL)	Mikroba penambat nitrogen pada media Nfb semisolid (MPN/100 mL)
Tanah <i>polybag</i>	$2.4 \times 10^4$	$3.4 \times 10^5$	$7 \times 10^3$

**Tabel 3.** Jumlah total mikroba tanah setelah perlakuan

Sampel tanah <i>polybag</i>	Jumlah total mikroba fungsional		
	Mikroba dekomposer pada media agar CMC (CFU/mL)	Mikroba pelarut posfat pada media agar Pikovskaya (CFU/mL)	Mikroba penambat nitrogen pada media Nfb semisolid (MPN/100 mL)
K-f1	$1.0 \times 10^3$	$2.8 \times 10^2$	$3.0 \times 10^3$
K+f1	$1.5 \times 10^4$	$1.2 \times 10^4$	$3.0 \times 10^3$
B20f1	$6.2 \times 10^5$	$8.2 \times 10^6$	$2.1 \times 10^4$
B40f1	$8.9 \times 10^5$	$7.9 \times 10^5$	$2.8 \times 10^4$
B60f1	$5.5 \times 10^7$	$4.4 \times 10^7$	$2.8 \times 10^4$
B80f1	$2.2 \times 10^7$	$1.2 \times 10^7$	$2.8 \times 10^4$
K+f2	$2.2 \times 10^3$	$1.6 \times 10^3$	$4.0 \times 10^3$
B20f2	$4.4 \times 10^4$	$6.4 \times 10^4$	$1.5 \times 10^4$
B40f2	$7.1 \times 10^5$	$9.1 \times 10^5$	$2.0 \times 10^4$
B60f2	$1.8 \times 10^5$	$7.8 \times 10^5$	$2.0 \times 10^4$
B80f2	$3.1 \times 10^5$	$3.9 \times 10^5$	$2.8 \times 10^4$

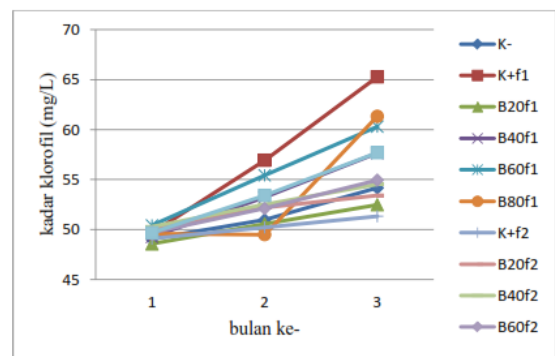
Keterangan : K- : tanpa pupuk apapun; K+ : pemberian pupuk NPK (0.5 g/tanaman); B20, B40, B60, B80 : perlakuan *biofertilizer* 20, 40, 60, dan 80 ml/tanaman; f1 : pemberian 1x1 minggu; f2 : pemberian 1x2 minggu.

Hasil yang ditunjukkan tabel.1 tersebut menunjukkan bahwa jumlah total mikroba fungsional telah memenuhi standar baku mutu *biofertilizer* berdasarkan peraturan menteri pertanian melalui metode penghitungan TPC dan MPN dengan jumlah total mikroba terendah mencapai  $1.6 \times 10^8$  CFU/mL pada bakteri *Cytophaga saccharophila*, sedangkan jumlah tertinggi mencapai  $1.9 \times 10^{11}$  CFU/mL pada bakteri *Bacillus subtilis*. Sehingga formulasi konsorsium mikroba dapat diaplikasikan ke tanaman sebagai *biofertilizer*. Jumlah total mikroba fungsional setelah perlakuan (tabel.3) lebih tinggi dibandingkan sebelumnya. Hal ini ditunjukkan dengan tabel.2, jumlah total mikroba dekomposer sebelum perlakuan yaitu  $2.4 \times 10^4$  CFU/mL, mikroba pelarut fosfat dan mikroba pemfiksasi nitrogen berturut-turut adalah  $3.4 \times 10^4$  serta  $7 \times 10^3$  MPN/100 mL. Jumlah ini lebih rendah dibandingkan dengan jumlah total mikroba tanah setelah perlakuan yang dapat mencapai  $5.5 \times 10^7$  CFU/mL pada mikroba dekomposer. Hal yang sama juga diperlihatkan pada mikroba pelarut fosfat maupun mikroba penambat nitrogen  $4.4 \times 10^7$  MPN/100mL serta  $2.8 \times 10^4$  MPN/100 mL pada media *semisolid* Nfb (tabel.3).

**Tabel 4.** Rata-rata kadar klorofil daun tanaman sengon tiap perlakuan

Perlakuan	Kadar klorofil (m/L)
K-	$54,16 \pm 1,14^a$
K+f1	$65,28 \pm 1,07^c$
B20f1	$52,48 \pm 0,81^a$
B40f1	$57,64 \pm 0,52^a$
B60f1	$60,3 \pm 0,53^b$
B80f1	$61,33 \pm 1,26^b$
K+f2	$51,33 \pm 1,35^a$
B20f2	$53,43 \pm 0,45^a$
B40f2	$54,53 \pm 0,59^a$
B60f2	$54,94 \pm 1,72^{ab}$
B80f2	$57,7 \pm 2^{ab}$

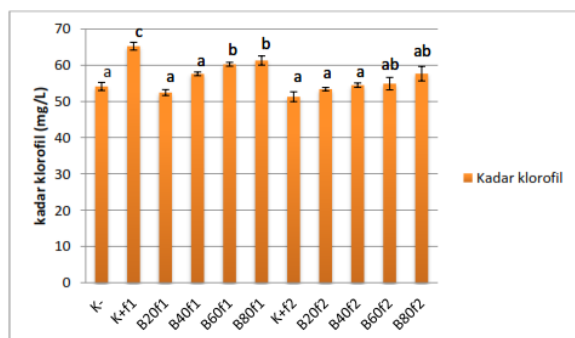
Keterangan : K- : tanpa pupuk apapun; K+ : pemberian pupuk NPK (0.5g/tanaman); B20, B40, B60, B80 : perlakuan *biofertilizer* 20, 40, 60, dan 80 ml/tanaman; f1 : pemberian 1x1 minggu; f2 : pemberian 1x2 minggu

**Gambar 1.** Kadar klorofil daun tanaman sengon pada berbagai perlakuan

setelah bulan ke-1, 2, dan 3. Keterangan : K- : tanpa pupuk apapun; K+ : pemberian pupuk NPK (5g/tanaman); B20, B40, B60, B80 : perlakuan *biofertilizer* 20, 40, 60, dan 80 ml/tanaman; f1 : pemberian 1x1 minggu; f2 : pemberian 1x2 minggu.

Perhitungan parameter kadar klorofil daun tanaman sengon dilakukan pada bulan ke-1, 2, dan 3 setelah perlakuan. Hal ini dikarenakan adanya keterbatasan jumlah daun pada setiap tanaman. Daun yang dihitung adalah yang memiliki posisi nomor 3 dari bawah dengan ketentuan daun dalam keadaan daun segar, berwarna hijau, dan tidak rontok. Hasil perhitungan kadar klorofil daun dapat dilihat pada tabel.4 dan gambar.1. Grafik kadar klorofil daun tanaman sengon pada gambar.1 menunjukkan bahwa laju pertambahan dari bulan pertama hingga bulan ke-3 relatif konstan. Namun, kadar klorofil tertinggi dicapai K+f1 pada bulan ke-2 dan ke-3 yaitu 56.49 mg/L dan

65.28 mg/L, kemudian disusul oleh B80f1 yaitu 61.32 mg/L pada bulan terakhir. Sedangkan kadar klorofil terendah diraih K+f2 dengan nilai 51.33 mg/L.



**Gambar 2.** Rata-rata kadar klorofil daun senon pada berbagai perlakuan pada minggu ke-12

Berdasarkan uji normalitas dengan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levene* menunjukkan bahwa kadar klorofil berdistribusi secara normal namun data tidak homogen pada taraf 5%. Uji ANAVA satu arah terhadap parameter kadar klorofil daun menunjukkan hasil yang berpengaruh signifikan ( $P(0,000) < \alpha(0,05)$ ) oleh perlakuan yang diberikan. Oleh karena data yang dihasilkan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji *Brown-Forsythe*. Hasil uji menunjukkan bahwa kadar klorofil daun berpengaruh nyata oleh perlakuan yang diberikan ( $P(0,000) < \alpha(0,05)$ ), namun pada hasil pada perlakuan tidak lebih baik daripada kontrol.

Nilai rerata tertinggi dicapai oleh K+f1 yaitu pemberian pupuk NPK 0.5 gr/tanaman dengan frekuensi pemberian sekali dalam satu minggu. Pada gambar.2 menunjukkan bahwa K+f1 ( $65.28 \pm 1.07$  mg/L) menunjukkan kadar klorofil tertinggi dan berpengaruh secara signifikan dibanding dengan lainnya. Hasil tertinggi dibawahnya adalah B80f1 ( $61.33 \pm 1.26$  mg/L) dengan perbedaan nilai yang relatif kecil. Djukri dan Bambang (2003) menyatakan bahwa adanya penurunan kadar nitrogen pada tanaman berpengaruh terhadap fotosintesis, baik lewat kandungan klorofil maupun enzim fotosintetik. Hal ini terlihat pada perlakuan K- ( $54.16 \pm 1.11$  mg/L) yang merupakan hasil terendah pada parameter kadar klorofil. Perlakuan K- tidak berbeda signifikan terhadap B20f1 ( $52.49 \pm 0.81$  mg/L), B40f1 ( $57.64 \pm 0.50$  mg/L), K+f2 ( $51.33 \pm 1.35$  mg/L), B20f2 ( $53.43 \pm 0.45$  mg/L), B40f2 ( $54.53 \pm 0.59$  mg/L), B60f2 ( $54.94 \pm 1.72$  mg/L), serta B80f2 ( $57.7 \pm 2.00$  mg/L).

Klorofil merupakan komponen kloroplas yang utama dan kandungan klorofil berkorelasi positif dengan laju fotosintesis (Danks *et al.*, 1983). Hal tersebut yang mendasari penelitian ini untuk mengetahui adanya pengaruh dosis *biofertilizer* terhadap kadar klorofil dimana menjadi gagasan dapat

menambah hasil fotosintesisnya. Klorofil disintesis di daun dan berperan untuk menangkap cahaya matahari yang jumlahnya berbeda untuk tiap spesies. Sintesis klorofil dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti cahaya, gula atau karbohidrat, air, temperatur, faktor genetik, unsur-unsur hara seperti N, Mg, Fe, Mn, Cu, Zn, S dan O (Hendriyani dan Setiari, 2009). Adanya peranan mikroba yang mampu menambat N, melarutkan P, dan merombak bahan organik dalam *biofertilizer* dapat menyediakan kebutuhan unsur hara seperti N, P, dan K serta unsur hara lainnya yang kemudian akan diserap oleh tanaman untuk selanjutnya digunakan dalam proses metabolisme. Suplai hara yang cukup membantu terjadinya proses fotosintesis dan menghasilkan senyawa organik yang akan diubah dalam bentuk ATP saat berlangsungnya respirasi, selanjutnya ATP ini akan digunakan untuk membantu pertumbuhan tanaman (Meirina *et al.*, 2011). Tanaman yang mendapat cukup hara dapat menyelesaikan siklus hidupnya lebih cepat, sedangkan tanaman yang kekurangan hara akan berpengaruh pada proses pertumbuhan dan perkembangan sehingga berjalan lebih lambat (Rasyid *et al.*, 2010).

Berdasarkan hasil bahwa dosis dan frekuensi dari *biofertilizer* berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil yaitu pada perlakuan kontrol positif dengan frekuensi pemberian seminggu sekali, hal ini karena adanya pemenuhan unsur-unsur penting oleh pupuk NPK. Pada perlakuan B80f1 ( $61.33 \pm 1.26$  mg/L) juga menunjukkan kadar klorofil yang tinggi, hal ini dikarenakan adanya pemenuhan unsur penyusun klorofil. Unsur-unsur tersebut dipenuhi karena adanya peranan dari mikroba dalam *biofertilizer*. Unsur hara N dan P berguna untuk pembentukan klorofil dan kloroplas pada daun yang nantinya berguna untuk proses fotosintesis. Gardner *et al.* (1991) mengemukakan bahwa daun dibutuhkan untuk penyerapan dan pengubahan energi cahaya matahari menjadi zat-zat yang dibutuhkan untuk pertumbuhan melalui fotosintesis. Dari hasil dapat dilihat bahwa mikroba dalam *biofertilizer* berpengaruh terhadap peningkatan kadar klorofil namun belum dapat berfungsi maksimal, masih perlu adanya penelitian lebih lanjut tentang komposisi *biofertilizer* yang tepat dan dapat dikombinasikan dengan pupuk. Pemilihan bakteri pada penelitian kali ini sudah tepat seperti *Azotobacter sp.* yang merupakan mikroba untuk memfiksasi nitrogen bebas dan tidak bersimbiosis dengan tanaman. Dengan bantuan enzim azotase, *Azotobacter sp.* mengkonversi dinitrogen menjadi ammonium melalui reduksi elektron dan protonasi gas dinitrogen (Hendarsah dan Simarmata, 2004). Molekul nitrogen bebas diubah menjadi nitrogen sel. Nitrogen yang terikat pada struktur tubuh bakteri ini dilepas dalam bentuk organik sebagai sekresi atau setelah *Azotobacter sp.* itu mati (Ismirnani *dkk.*, 2007).

Mikroba lain yaitu mikroba perombak bahan organik *Cellulomonas sp.*, *Lactobacillus plantarum* dan

*Saccharomyces cereviceae* dapat menyediakan unsur N, P dan K. Mikroba perombak bahan organik ini banyak digunakan untuk mempercepat proses dekomposisi sisa-sisa tanaman yang banyak mengandung lignin dan selulosa untuk meningkatkan kandungan bahan organik dalam media tanam (Rosmarkam dan Nasih, 2002). Pada dosis yang lain peningkatan kadar klorofil memang tidak begitu signifikan, hal ini dapat dikarenakan mikroba penambat N yang kurang berfungsi optimal.

## SIMPULAN

Dosis dan frekuensi pemberian *biofertilizer* berpengaruh nyata terhadap kadar klorofil daun bibit sengon (*Paraserianthes falcataria* (L.) Nielsen) yaitu oleh perlakuan K+f1 dengan nilai mencapai  $65.28 \pm 1.07$  mg/L. Hasil dari pemberian berbagai dosis dan frekuensi tidak lebih bagus jika dibandingkan dengan kontrol (K+f1), urutan hasil tertinggi dibawah kontrol adalah B80f1 ( $61.33 \pm 1.26$  mg/L) dengan perbedaan nilai yang relatif kecil. Peningkatan kadar klorofil tersebut dikarenakan adanya suplai N dan fosfat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Backman PA, Brannnen PM and Mahaffe WF.1994. *Plant Respon and Disease Control Followin Seed Inoculation with Bacillus sp.* Di dalam: Ryder MH, Stephen PM, Bowen GD, editor. *Improving Plant Production with Rhizosphere Bacteria.* Australia: Pruc Third Int Work PGPR South Australia, March 7-11 1994.
- Budiyanto, M. A. K. 2004. *Mikrobiologi Terapan.* Universitas Muhammadiyah Press. Malang.
- Danks SM, Evans, Whittaker PA (1983). *Photosynthetic system.* John Willey & Sons, New York
- Ermina, Y. 2010. *Media Tanaman Hidroponik dari Arang Sekam.* Balai Besar Pelatihan.
- Gardner, F. P., R. B. Pearce, dan R.L. Mitchell. 1991. *Fisiologi Tanaman Budidaya.* Jakarta : UI Press.
- Hendriyani, Ika Susanti dan Setiari, Nintya. 2009. *Kandungan Klorofil dan Pertumbuhan Kacang Panjang (Vigna sinensis) pada Tingkat Penyediaan Air yang Berbeda. J. Sains & Mat.* Vol 17 No. 3, Juli 2009: 145-150.
- Hindersah, R dan Simarta, Tualar. 2004. *Potensi Rizobakteri Azotobacter dalam Meningkatkan Kesehatan Tanah.* Fakultas Pertanian Padjajaran. Bandung.
- Isminarni, F., S. Wedhastri, J. Widada, B.H. Purwanto, 2007, Penambat nitrogen dan penghasilan indol asam aetat oleh isolat-isolat *Azotobacter* pada pH rendah dan aluminium tinggi, *Jurnal Ilmu Tanah dan Lingkungan*, 7(1): 23-30.
- Meirina, T., Darmanti, S., dan Haryanti, S., 2011, Produktivitas Kedelai (*Glycine max* (L) Merril var. lokon) yang diperlakukan dengan Pupuk Organik Cair Lengkap pada Dosis dan Waktu Pemupukan yang Berbeda, *Skripsi*, Jurusan Biologi MIPA, Universitas Diponegoro, Semarang.
- Purnobasuki, H., 2012, *Panduan Praktikum Fisiologi Tumbuhan*, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rasyid, B., Samosir, S. S. R., dan Sutomo, F., 2010, Respon tanaman jagung (*Zea mays*) pada berbagai regim air tanah dan pemberian pupuk nitrogen, *Prosiding Pekan Serealia Nasional*: 26-34.
- Rosmarkam, A., dan Nasih Y., 2002, *Ilmu Kesuburan Tanah*, Kanisius, Yogyakarta.
- Sampson, P.H., Zarco, T.P., Mohammed, G.H., Miller, J.R., and Noland, T., 2003, Hyperspectral remote sensing of forest condition: estimating chlorophyll content in tolerant hardwoods, *Forest Science* 49 (3): 381-391.
- Sutedjo, M.M., A.G. Kartasapoetra, dan Sastroatmodjo, S. 1991. *Mikrobiologi Tanah.* Rineka Cipta, Jakarta.
- Suwahyono, U., 2011, *Petunjuk Praktis Penggunaan Pupuk Organik Secara Efektif dan Efisien.* Penebar Swadaya, Jakarta
- Syaifudin, A., L. Mulyani, M. Ariesta. 2010. Pupuk Kosarmas Sebagai Upaya Revitalisas Lahan Kritis Guna Meningkatkan Kualitas dan Kuantitas Hasil Pertanian. *Skripsi.* UNS
- Widawati, S dan Suliasih, 2006, Augmentasi bakteri pelarut fosfat (BPF) potensial sebagai pemacu pertumbuhan caysin (*Brasica caventis oed*) di tanah marginal, *Jurnal Biodiversitas*, 7(1): 10-14.
- Yusron., dan Azwar, Moh. 2012. Pengaruh Beberapa Jenis Pupuk Hayati terhadap Pertumbuhan Semai Sengon (*Paraserianthes falcataria* (L) Nielsen) pada Medium Tumbuh Tanah Bekas Tambang Emas. *Skripsi.* Universitas Tadulako Palu. Sulawesi Tengah