

POTENSI RHIZOBAKTERI DALAM MENDUKUNG PERTUMBUHAN STEK BATANG SINGKONG (*Manihot esculenta* Crantz)

[The Potential of Rhizobacteria in Supporting the Growth of Cassava Stem Cuttings]

Agung Adi Nugroho *, Dwi Agustiyani *, Entis Sutisna *, Nani Mulyani *, Tirta Kumala Dewi *, Achirul Nditasari *, Sarjiya Antonius *[✉], dan Sri Purwaningsih *

*Pusat Riset Mikrobiologi Terapan, Organisasi Riset Hayati dan Lingkungan, Badan Riset dan Inovasi Nasional Kawasan Sains dan Teknologi Dr. (HC) Ir. Soekarno, Jl. Raya Jakarta-Bogor KM 46, Cibinong, Bogor, Indonesia, 16911

*Email: sarjantonius@gmail.com

*Kontributor Utama

ABSTRACT

Cassava (*Manihot esculenta* Crantz) is an important food plant in Indonesia, particularly as a carbohydrate source. We require a plan to increase production and quality. The use of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) in organic fertilizers is one option. The aim of this study is to isolate, characterize, and evaluate potential microbial candidates for cassava greenhouse growth. Fifteen rhizobacteria isolates from tuber plant roots were characterized based on K and P solubilizing activity; N-fixing, IAA production, protease enzyme production, ACC Deaminase and siderophore production. The bacterial isolates' ability to promote the grow cassava stem cuttings was then assessed. The rhizobacterial inoculation treatments in this study included fifteen single isolates, a combination of isolates and controls. With three replications, the experimental design was completely randomized. Five P-solubilizing bacterial isolates (PK AL.2.2, PK LAS 4A.4, PK 4.1, PK AL.2.6, PK Kbm 6.1), two protease-producing isolates (Pro LAS 4B.6 and Pro LAS 5A.3) and one IAA-producing isolate (TSB LAS 1A.6) increased wet plant weight by 20–41% as compared to controls. The results of molecular identification of the six excellent isolates were *Burkholderia* sp. (PK AL.2.2), *Paenarthrobacter nicotinovorans* (Pro LAS 4B.6), *Burkholderia territorii* (PK 4.1), *Burkholderia cenocepacia* (Pro LAS 5A.3), *Burkholderia territorii* (PK LAS 4A.4) and *Kocuria rhizophila* (TSB LAS 1A.6).

Keywords: Rhizobacteria, biofertilizers, cassava, P solubilization, IAA production

ABSTRAK

Singkong (*Manihot esculenta* Crantz) adalah tanaman pangan di Indonesia yang penting terutama sebagai sumber karbohidrat. Diperlukan strategi untuk meningkatkan produktivitas dan kualitasnya. Salah satunya adalah penggunaan Rhizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (RPPT) dalam pupuk organik. Penelitian ini bertujuan untuk isolasi, karakterisasi dan uji kandidat mikroba unggul terhadap pertumbuhan singkong skala rumah kaca. Lima belas isolat rhizobakteri dari perakaran tanaman umbi dikarakterisasi berdasarkan aktivitas pelarutan K, P, penambat N, produksi IAA, produksi enzim protease, ACC Deaminase dan produksi siderofor. Isolat bakteri tersebut selanjutnya diuji pengaruhnya dalam mendukung pertumbuhan stek batang singkong. Perlakuan inkulasi rhizobakteri dalam penelitian ini adalah lima belas isolat tunggal kandidat mikroba unggul, mix isolat dan kontrol. Rancangan percobaan menggunakan Rancangan Acak Lengkap dengan 3 kali ulangan. Lima isolat bakteri pelarut P (PK AL.2.2, PK LAS 4A.4, PK 4.1, PK AL.2.6, PK Kbm 6.1), 2 isolat penghasil protease (Pro LAS 4B.6, Pro LAS 5A.3) dan 1 isolat bakteri penghasil IAA (TSB LAS 1A.6) meningkatkan berat basah tanaman sekitar 20–41% dibandingkan kontrol. Hasil identifikasi molekuler 6 isolat mikroba unggul terseleksi adalah: *Burkholderia* sp. (PK AL.2.2), *Paenarthrobacter nicotinovorans* (Pro LAS 4B.6), *Burkholderia territorii* (PK 4.1), *Burkholderia cenocepacia* (Pro LAS 5A.3), *Burkholderia territorii* (PK LAS 4A.4), dan *Kocuria rhizophila* (TSB LAS 1A.6).

Kata Kunci: Rhizobakteri, pupuk hayati, singkong, pelarut P, produksi IAA

PENDAHULUAN

Singkong atau ubi kayu (*Manihot esculenta* Crantz) merupakan salah satu sumber karbohidrat yang juga memiliki beberapa kandungan nutrisi. Dalam 100 g singkong mengandung protein 1 g, serat 1,3 g, kalsium 26 mg, fosfor 47 mg dan zat besi 3,5 (mg) selain itu kandungan mineral nya tercatat lebih tinggi dibandingkan ubi jalar dan kentang Irlandia (Bayata, 2019). Jumlah kalori dalam 100 gram singkong mengandung 154–160 kkal dan karbohidrat 36,8–38,06 g lebih tinggi jika dibandingkan dengan kentang namun kandungan lemaknya yang lebih rendah (Bayata, 2019; Suharko dan Hudayana, 2020). Nutrisi yang terkandung tersebut menjadikan singkong sebagai

makanan alternatif pengganti nasi yang rendah lemak, tinggi serat dan cukup energi. Oleh karena itu singkong menjadi komoditas pangan yang penting dan tentunya mempunyai nilai ekonomi.

Produktivitas dan kualitas singkong masih membutuhkan perhatian khusus. Hal tersebut perlu dilakukan untuk mencapai ketahanan pangan berkelanjutan dan peningkatan ekonomi. Indonesia menempati peringkat empat sebagai negara penghasil singkong terbesar setelah Nigeria, Thailand dan Brazil (Ebewore dan Isiorhovoja, 2019). Menurut data Direktorat Jenderal Tanaman Pangan (2020) rata-rata produktivitas tanaman singkong di Indonesia dari tahun 2016–2020 adalah 25,43 ton/ha. Data tersebut masih relatif rendah jika

*Kontributor Utama

*Diterima: 23 Januari 2023 - Diperbaiki: 10 Februari 2023 - Disetujui: 1 November 2023

dibandingkan dengan potensi produktivitas varietas unggul singkong yang berkisar antara 40–50 ton/ha (Saleh, 2012). Bahkan maksimum hasil panen singkong dunia pernah tercatat sebanyak 70 ton/ha/tahun (El-Sharkawy, 2004). Strategi yang tepat diperlukan untuk meningkatkan produktivitas singkong. Pemanfaatan mikroba unggul sebagai agen hayati pada pupuk organik atau pupuk hayati adalah salah satunya. Agen hayati dapat menjadi bagian yang terintegrasi dari sebuah sistem budidaya singkong yang ramah lingkungan dan berkelanjutan.

Mikroba sebagai salah satu organisme memiliki peran penting dalam mendukung pertumbuhan tanaman. Rhizobakteri/Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (R/B-PPT) adalah kelompok bakteri dari daerah perakaran atau tanah yang mampu meningkatkan pertumbuhan tanaman melalui berbagai mekanisme (Backer *et al.*, 2018; Volpiano *et al.*, 2022). Bakteri RPPT dapat bertindak sebagai stimulator pertumbuhan melalui sintesis fitohormon (IAA, giberelin, sitokinin dan etilen), penyedia unsur hara melalui fiksasi nitrogen; melarutkan P dan K, resistensi terhadap penyakit melalui produksi enzim lisis; metabolit sekunder; metabolit sekunder dan penginduksi ketahanan terhadap cekaman abiotik melalui produksi antioksidan, ACC Deaminase, eksopolisakarida (Mustafa *et al.*, 2019; Hamid *et al.*, 2021). Berdasarkan pernyataan tersebut bakteri dalam meningkatkan pertumbuhan dan perkembangan tanaman menggunakan satu atau beberapa mekanisme.

Teknologi pengembangan agen hayati sebagai biang induk pupuk organik/ pupuk hayati untuk meningkatkan pertumbuhan dan produktivitas singkong masih terbatas. Dilaporkan adanya peningkatan pertumbuhan singkong meliputi tinggi tanaman, total biomassa kering tanaman atas, perlambatan penuaan dan defisiensi hara serta akumulasi besi setelah diinokulasikan dengan *Bacillus subtilis* (GBO3) (Freitas *et al.*, 2015). Pemanfaatan fitohormon dan ekstraseluler dari *Bacillus* sp. CaSUT007 memberikan respon positif terhadap panjang akar dan pucuk serta berat segar dan kering (Natthiya *et al.*, 2013). Pada penelitian yang dilakukan oleh Freitas *et al.* (2019) *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) dan *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) dapat menurunkan kejadian penyakit busuk akar akibat *Fusarium solani* lebih dari setengahnya dibandingkan dengan kontrol selain itu pada uji *in vitro* dapat mengurangi pertumbuhan miselium dan kolonisasi jamur tersebut.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh rhizobakteri potensial pendukung pertumbuhan dan produksi singkong. Tahapan penelitian ini dimulai dari isolasi dan karakterisasi bakteri dari perakaran

berbagai tanaman umbi termasuk singkong serta uji potensinya pada pertumbuhan stek batang singkong pada skala rumah kaca.

BAHAN DAN CARA KERJA

Isolasi Rhizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman dari Perakaran Singkong

Sampel rhizosfer singkong diperoleh dari Kabupaten Tulang Bawang, Kabupaten Lampung Tengah, Kabupaten Lampung Timur dan Kota Metro, Provinsi Lampung. Sebanyak 20 sampel yang diambil kemudian dibawa ke Laboratorium Mikrobiologi Pertanian-Pusat Riset Mikrobiologi Terapan-BRIN untuk dilakukan isolasi. Sampel rhizosfer sebanyak 5 gram diencerkan pada 45 mL aquades steril (10^{-1}) dan dihomogenasi menggunakan shaker dengan kecepatan 110 rpm selama 1 jam. Suspensi tersebut kemudian diencerkan secara bertingkat (10^{-3} – 10^{-6}) dan diinokulasikan ke media selektif. Digunakan spreader gelas steril untuk meratakan suspensi yang diinokulasikan (Kumar *et al.*, 2011).

Media selektif yang digunakan adalah *Skim Milk Agar* (SMA) untuk isolasi bakteri proteolitik yang mengacu pada (Chu, 2007) dengan modifikasi berupa penambahan D-Glukosa, komposisinya adalah D-Glukosa 1 g; Yeast Extract 2,5 g; Susu Skim 10 g; Agar 22; Aquades 1 L. Media Pikovskaya digunakan untuk isolasi bakteri pelarut fosfat yang komposisinya D-Glukosa 10 g; NaCl 0,2 g; Ca₃(PO₄)₂ 5 g; (NH₄)₂SO₄ 0,5 g; KCl 0,2 g; MgSO₄·7H₂O 0,1 g; MnSO₄ 0,0025 g; FeSO₄ 0,25 g; Yeast Extract 0,5 g; Agar 28 g; Aquades 1 L (Pikovskaya, 1948; Gupta *et al.*, 1994). *Tryptic Soy Agar* (TSA) *Half Strength* (50%) digunakan sebagai media isolasi bakteri penghasil hormon tumbuh (IAA) yang komposisinya Peptone 10 g; NaCl 2,5 g; Agar 22 g; Aquades 1 L (Sukmadewi *et al.*, 2015). Setelah diinkubasi selama 48 jam (media TSA dan SMA) dan 3–4 hari (Media Pikovskaya) pada suhu ruang koloni yang muncul diamati berdasarkan perbedaan morfologi dan zona jernih yang terbentuk (Media SMA dan Pikovskaya). Koloni tersebut kemudian diisolasi dan dimurnikan untuk dikarakterisasi lebih lanjut.

Karakterisasi Aktivitas Pemacu Pertumbuhan Tanaman

A. Pelarut Fosfat

Sebanyak satu ose koloni bakteri diinokulasikan ke dalam media Pikovskaya. Inkubasi dilakukan selama 3–4 hari pada suhu ruang. Zona jernih yang muncul disekitar koloni diamati dan diukur diameternya (D) menggunakan rumus (D_{zona jernih} = D_{total} - D_{koloni}) (Gupta *et al.*, 1994).

B. Proteolitik

Pengujian aktivitas bakteri proteolitik dilakukan dengan menginokulasikan satu ose koloni bakteri pada media SMA. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu ruang. Bakteri yang disekeliling koloninya menunjukkan zona jernih diukur diameternya menggunakan rumus ($D_{zona\ jernih} = D_{total} - D_{koloni}$) (Laili dan Agustiyani, 2016).

C. IAA Kualitatif

Uji IAA kualitatif menggunakan metode Gordon dan Weber (1951) yaitu dengan menggoreskan satu ose isolat bakteri pada media TSA yang telah ditambahkan L-Triptofan 100 µg/mL. Setelah diinkubasi selama 48 jam kemudian cawan petri tersebut ditetes reagen Salkowski (FeCl_3 0,5 M + HClO_4 50% [v/v]) selanjutnya dinkubasi kembali selama 30 menit di ruang gelap. Warna merah muda atau kemerah yang muncul di sekitar koloni menunjukkan hasil positif.

D. IAA Kuantitatif

Isolat bakteri yang menunjukkan reaksi positif pada pengujian IAA kualitatif selanjutnya dilakukan analisis secara kuantitatif dengan metode spektrofotometri (Gravel et al., 2007). Isolat bakteri ditumbuhkan pada media TSB (*Triptic Soy Broth*) *Half Strength* yang telah ditambahkan 200 ppm L-Triptofan. Media berisi bakteri kemudian dinkubasi selama 72 jam dalam *rotary shaker* berkecepatan 125 rpm. Analisis dilakukan setiap 24 jam dengan mengambil 2 mL suspensi bakteri kemudian disentrifugasi selama 10 menit berkecepatan 10.000 rpm. Supernatant sebanyak 1 mL kemudian diambil untuk ditambahkan dengan 2 mL reagen Salkowski. Sampel diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer panjang gelombang 530 nm. Perbandingan absorbansi sampel dengan kurva standar IAA murni dilakukan untuk menghitung konsentrasi IAA.

E. Penambat Nitrogen

Media yang digunakan dalam uji kemampuan bakteri dalam menambat nitrogen yaitu NFB dengan komposisi Asam malat 5 g; K_2HPO_4 0,5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; NaCl 0,1 g; $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0,02 g; larutan mikronutrien ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,04 g; $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,12 g; H_3BO_3 1,4 g; $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 1,175 g dalam 1000 mL aquades) 2 mL; 2 mL *bromothymol blue*; 4 mL larutan FeEDTA; 1 mL larutan vitamin; KOH 4,5 g; Agar 15 g; Aquades 1000 mL dengan pH 6,5. Satu ose isolat bakteri ditumbuhkan pada media Nfb tersebut dan diinkubasi selama 3–5 hari dalam suhu ruang. Warna biru yang muncul pada media yang ditumbuhki bakteri menunjukkan hasil positif

(Baldani et al., 2014).

F. Pelarut K

Uji bakteri pelarut K secara kualitatif dilakukan menggunakan media Alexsandrov yang mengandung D-Glukosa 5 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,5 g; FeCl_3 0,005 g; CaCO_3 0,1 g; $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$; Feldspar 2 g, Agar 20 g dan aquades 1 L yang disuplementasi dengan *yeast extract* sebanyak 5 g (Prajapati dan Modi, 2012; Rajawat et al., 2016). Satu ose isolat bakteri ditumbuhkan pada media Alexsandrov dan diinkubasi selama 3–4 hari dalam suhu ruang. Zona jernih yang terbentuk kemudian diukur diameternya menggunakan rumus ($D_{zona\ jernih} = D_{total} - D_{koloni}$).

G. Aktivitas Katalase

Pengujian aktivitas katalase dilakukan dengan meneteskan H_2O_2 3% ke isolat bakteri yang telah diletakkan di gelas objek kemudian diaduk sampai terbentuk buih. Munculnya buih sebagai penanda reaksi positif (Reiner, 2010).

H. HCN

Isolat bakteri ditumbuhkan pada media Nutrient Agar (NA) yang telah ditambahkan Glycine 4,4 %. Setelah inokulasi bakteri kemudian ditutup dengan kertas Whatmann no.41 yang sebelumnya ditetes dengan larutan *Picric Acid* 0,5 % dalam 2 % natrium karbonat. Perubahan warna dari kuning menjadi oranye-coklat menunjukkan hasil positif (Castric, 1974).

I. Produksi Ammonia

Satu ose isolat bakteri ditumbuhkan di media pepton cair 10 mL lalu diinkubasi selama 48 jam pada suhu $36 \pm 2^\circ\text{C}$. Kultur cair kemudian ditetes dengan reagen Nessler sebanyak 0,5 mL. Perubahan warna kuning sampai coklat menandakan produksi ammonia (Agbodjato et al., 2015).

J. Siderofor

Isolat bakteri diinokulasikan ke dalam *petri dish* yang berisi media CAS (*Chrome Azurol S*) agar (Louden et al., 2011). Kultur tersebut diinkubasi di dalam suhu ruang selama 72 jam. Warna kuning oranye di sekitar koloni bakteri yang tumbuh menunjukkan kemampuan isolat menghasilkan siderofor.

K. ACC Deaminase

Media yang digunakan dalam pengujian ini adalah Dworkin-Foster (DF) (Dworkin dan Foster, 1958) dengan komposisi KH_2PO_4 4 g; Na_2HPO_4 6 g; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,2 g; Glukosa 2 g; *Gluconic acid* 2 g; *Citric acid* 2 g; *Stock Solution 1* ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,1 g dalam 10 mL aquades) 0,1 mL; *Stock Solution 2* (H_3BO_3 0,001 g; $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ 0,01119 g;

ZnSO₄.7H₂O 0,1246 g; CuSO₄.5H₂O 0,07822 g; Na₂MoO₄.2H₂O 0,016 g; akuades 100 mL) 0,1 mL; agar 22 g dan akuades 1000 mL. Media tersebut kemudian ditambahkan dengan 3 mM *l-aminocyclopropane-1-carboxylic acid* (ACC) dan sebagai kontrol negatif media DF ditambahkan 0,2 % (w/v) (NH₄)₂SO₄. Isolat bakteri yang telah diinokulasi kemudian diinkubasi selama 72 jam dalam suhu ruang (Ali *et al.*, 2014).

Uji Kandidat Isolat Unggul RPPT pada Tanaman Singkong

Isolat yang telah dikarakterisasi aktivitas memacu pertumbuhan tanaman kemudian dipilih dan digunakan untuk penelitian rumah kaca. Uji dilakukan di rumah kaca Pusat Riset Mikrobiologi Terapan-BRIN dengan menggunakan media tanam campuran tanah dan kompos (setara 20 ton/ha). Media tanam ditempatkan dalam polybag seberat 5 kg. Kandidat mikroba unggul yang digunakan yaitu 1) Pro LAS 5A.3; 2) Pro LAS 4B.6; 3) Pro AL.2.6; 4) PK AL.2.2; 5) PK LAS 3.5; 6) PK LAS 4A.4; 7) PK LAS 3.7; 8) TSB LTS 1B.3; 9) TSB LAS 1A.6 hasil isolasi dari tanaman singkong. Dalam penelitian ini juga digunakan kandidat isolat unggul asal tanaman bukan singkong yang telah dikarakterisasi. Isolat tersebut yaitu 10) TSB Kbm 2.10; 11) TSB 2b; 12) PK 2.6; 13) PK. Kbm 6.1 (Agustiyani *et al.*, 2019), 14) PK 4.1 dan 15) PK 5.1. Perlakuan dalam penelitian ini yaitu 15 isolat tunggal seperti yang disebutkan sebelumnya. Kontrol pada penelitian ini adalah tanaman tanpa diinokulasi rhizobakteri. Rancangan percobaan yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap dengan masing-masing perlakuan 3 kali ulangan. Untuk mempertahankan kelembaban (24%) dilakukan penyiraman setiap hari dengan air hujan. Tanaman dipanen pada umur 70 hari. Parameter yang diamati meliputi, tinggi tanaman, jumlah daun, bobot basah tanaman bagian atas, akar, dan bobot basah tanaman total dan kandungan klorofil (SPAD Chlorophyll Meter).

Identifikasi Isolat Unggul

Isolat terpilih yang memiliki aktifitas PGPR diidentifikasi secara molekuler. Analisis molekuler 16S rDNA dilakukan dengan metode *Colony PCR*. Koloni bakteri usia 3–4 hari dicuplik menggunakan osse steril kemudian dimasukkan ke dalam larutan campuran PCR yang berisi 15 µL GoTaq® Green Master Mix, 11,2 µL Nuclease Free Water dan 2,4 µL Primer 27F dan 1492R. Kemudian campuran PCR dimasukkan dalam mesin PCR dengan program sebagai berikut denaturasi awal 94°C selama 2 menit, kemudian memasuki siklus *denaturation, annealing* dan *elongation* berturut-turut 94°C selama 30 detik, 55 °C selama 40 detik dan 72 °C selama 30 detik berlangsung sebanyak 30

siklus, dan diakhiri dengan *final extension* selama 5 menit pada suhu 72 °C. Hasil PCR dicek dengan elektroforesis menggunakan agaros 1%. Produk PCR dikirim ke *1st Base* untuk *sequencing*. Basa nukleotida hasil *sequencing* dianalisis dengan program BLAST pada situs <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>. Pohon filogenetik dari sekuen bakteri dikonstruksi dalam perangkat lunak MEGA X menggunakan metode *maximum likelihood* dan MUSCLE sebagai dasar penyelarasian dan ulangan *bootstraps* 1000.

Analisis Statistik

Data hasil pengujian kandidat isolat unggul pada tanaman singkong skala rumah kaca kemudian dilakukan analisis menggunakan SPSS (v.25, IBM Statistics). Analisis pendahuluan dilakukan dengan pengujian normalitas dan homogenitas data menggunakan Uji Shapiro-Wilk dan Uji Levene. Analysis of Variance (ANOVA) digunakan sebagai uji parametrik dengan uji lanjut yaitu *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) dengan $P \leq 0,05$. Jika didapatkan data yang tidak terdistribusi normal dan atau homogen digunakan uji non parametrik Kruskal-Wallis (Masciarelli *et al.*, 2014).

HASIL

Isolasi dan Karakterisasi Rhizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman

Rhizobakteri yang diperoleh dari hasil isolasi pada rhizosfer tanaman singkong yaitu sebanyak 242. Isolat tersebut kemudian dikarakterisasi lebih lanjut pada media selektif untuk mengetahui aktivitasnya dalam memacu pertumbuhan tanaman. Kandidat isolat unggul yang dipilih adalah rhizobakteri yang mempunyai lebih dari satu aktivitas dalam memacu pertumbuhan (multi aktivitas). Hasil karakterisasi lanjutan rhizobakteri didapatkan 9 kandidat isolat unggul dari rhizosfer singkong yang semuanya mempunyai aktivitas lebih dari satu, bahkan isolat PK AL 2.2 memiliki tujuh aktivitas. Kandidat isolat unggul dari rhizosfer temu lawak yaitu PK 5.1 juga memiliki tujuh aktivitas dalam memacu pertumbuhan tanaman. Isolat rhizobakteri baik dari rhizosfer singkong dan non singkong yang mampu melerutkan P ada 12, pelarut K ada 6 isolat, penghasil enzim protease ada 12, penambat N ada 9 isolat, penghasil hormon tumbuh IAA ada 7 isolat, penghasil enzim ACC Deaminase 3 isolat (Tabel 1 dan 2) sedangkan penghasil enzim katalase 4 isolat, penghasil HCN ada 3 isolat, penghasil amonia 3 isolat, penghasil siderofor ada 3 isolat, penghasil enzim ACC Deaminase 3 isolat (Tabel 3).

Tabel 1. Hasil uji aktivitas pelarut P, K, penghasil enzim protease, penambat N, ACC Deaminase dan uji kuantitatif penghasil hormon tumbuh (IAA) pada isolat asal rhizosfer tanaman singkong, talas dan temu lawak. (*The qualitative results of P and K solubilization, protease enzyme production, N-fixing, ACC Deaminase and growth hormone (IAA) quantitative assays on cassava, taro and curcuma plant rhizosphere isolates*).

No. (No)	Isolat Rhizobakteri (<i>Rhizobacteria Isolate</i>)	Sumber Isolat (<i>Isolate Source</i>)	Pel. P (<i>P Solubilizing</i>)	Pel. K (<i>K Solubilizing</i>)	Pro (<i>Proteolytic</i>)	Penambat N (<i>N-fix</i>)	IAA (ppm)	ACC (<i>Deaminase</i>)
1	Pro LAS 5A.3	Singkong	+	-	+++	+	-	-
2	Pro LAS 4B.6	Singkong	-	-	+++	+	-	-
3	Pro AL.2.6	Singkong	+	-	+++	-	19,16	-
4	PK AL.2.2	Singkong	+	-	+++	-	24,37	-
5	PK LAS 3.5	Singkong	+++	-	++	-	-	-
6	PK LAS 4A.4	Singkong	++	+	++	++	-	-
7	PK LAS 3.7	Singkong	++	+	++	+	-	-
8	TSB LTS 1B.3	Singkong	+	-	-	-	25,71	-
9	TSB LAS 1A.6	Singkong	-	-	+++	-	10,40	-
10	PK 4.1	Talas	+	+	++	++	-	-
11	PK 5.1	Temu lawak	+	+	+	-	-	-

Keterangan: Pelarut P (Pel. P) Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $0,51 < x \leq 1,0$; (+++) $> 1,0$. Pelarut K (Pel. K) Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $> 0,5$. Proteolitik Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,5 \leq x \leq 1,0$; (++) $1,01 < x \leq 1,5$; (+++) $> 1,5$. Penambat N: (+) media biru muda, koloni isolat tumbuh tipis, ++ media biru, koloni isolat tumbuh agak tebal. (*P Solubilizing (Pel. P) Ø Clear Zone (cm)*: (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $0,51 < x \leq 1,0$; (+++) $> 1,0$. *K Solubilizing (Pel. K) Ø Clear Zone (cm)*: (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $> 0,5$. *Proteolytic Ø Clear Zone (cm)*: (+) $0,5 \leq x \leq 1,0$; (++) $1,01 < x \leq 1,5$; (+++) $> 1,5$. *N-fixing*: (+) light blue media, isolate colonies grow thin, ++ blue media, isolate colonies grow rather thick).

Tabel 2. Aktivitas pelarut P, K, penghasil enzim protease, penambat N, ACC Deaminsae dan hormon tumbuh (IAA) pada isolat asal rhizosfer tanaman ganyong, taka dan talas/sente (Agustiyani et al., 2019). (*P and K solubilization, protease production, N-fixing, ACC Deaminase, and growth hormone (IAA) activity of isolates from the rhizosphere of canna tubers, taka tubers and taro plants (Agustiyani et al., 2019)*).

No. (No)	Isolat Rhizobakteri (<i>Rhizobacteria Isolate</i>)	Sumber Isolat (<i>Isolate Source</i>)	Pel. P (<i>P Solubilizing</i>)	Pel. K (<i>K Solubilizing</i>)	Pro (<i>Proteolytic</i>)	Penambat N (<i>N-fix</i>)	IAA (ppm)	ACC (<i>Deaminase</i>)
1	TSB Kbm 2.10	Ganyong	+	-	-	++	104,8	+
2	TSB 2b	Taka	-	-	++	+	22,29	+
3	PK 2.6	Taka	++	+	++	++	-	+++
4	PK Kbm 6.1	Talas/Sente	+++	+	-	++	70,6	-

Keterangan: Pelarut P (Pel. P) Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $0,51 < x \leq 1,0$; (+++) $> 1,0$. Pelarut K (Pel. K) Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $> 0,5$. Proteolitik Ø Zona Jernih (cm): (+) $0,5 \leq x \leq 1,0$; (++) $1,01 < x \leq 1,5$; (+++) $> 1,5$. Penambat N: (+) media biru muda, isolat tumbuh tipis, ++ media biru, isolat tumbuh agak tebal. ACC Deaminase: (+) isolat tumbuh tipis di media DF+ACC; (++) cukup tebal; (+++) tebal. (*P Solubilizing (Pel. P) Ø Clear Zone (cm)*: (+) $0,1 \leq x \leq 0,5$; (++) $0,51 < x \leq 1,0$; (+++) $> 1,0$. *K Solubilizing (Pel. K) Ø Clear Zone (cm)*: (+) $0,5 \leq x \leq 1,0$; (++) $1,01 < x \leq 1,5$; (+++) $> 1,5$. *N-fixing*: (+) light blue media, isolate colonies grow thin, ++ blue media, isolate colonies grow rather thick. ACC Deaminase: (+) isolates grow thin on DF+ACC media; (++) moderately thick; (+++) thick).

Tabel 3. Hasil uji aktivitas penghasil enzim katalase, HCN, amonia, siderofor dan ACC Deaminase secara kualitatif pada isolat asal rhizosfer tanaman singkong, talas, temu lawak, ganyong, taka dan talas/sente. (*The results of qualitative catalase, HCN, ammonia, siderophore, and ACC Deaminase enzyme-producing activity assays on isolates from the rhizosphere of cassava, taro, curcuma, canna tubers, taka tubers and taro plants*).

No. (No)	Isolat Rhizobakteri (<i>Rhizobacteria Isolate</i>)	Sumber Isolat (<i>Isolate Source</i>)	Katalase (Catalase)	HCN (HCN)	Amonia (Ammonia)	Siderofor (Siderophore)
1	Pro LAS 5A.3	Singkong	-	-	-	+
2	Pro LAS 4B.6	Singkong	-	-	-	-
3	Pro AL.2.6	Singkong	+	-	++	-
4	PK AL.2.2	Singkong	+	+	+	+
5	PK LAS 3.5	Singkong	-	-	-	-
6	PK LAS 4A.4	Singkong	-	-	-	-
7	PK LAS 3.7	Singkong	-	-	-	-
8	TSB LTS 1B.3	Singkong	-	-	-	-
9	TSB LAS 1A.6	Singkong	-	-	-	-
10	PK 4.1	Talas	+	-	-	-
11	PK 5.1	Temu lawak	+	+	+	+
12	TSB Kbm 2.10	Ganyong	-	++	-	-
13	TSB 2b	Taka	-	-	-	-
14	PK 2.6	Taka	-	-	-	-
15	PK Kbm 6.1	Talas/Sente	-	-	-	-

Keterangan: Katalase: (+) terdapat gelembung udara. HCN: (+) bercak warna cokelat pada kertas Whatmann; (++) kertas Whatmann berwarna jingga. Amonia: (+) media berubah warna menjadi jingga; (++) media berubah warna menjadi kuning kecoklatan. Siderofor: (+) muncul warna kuning-jingga di sekitar koloni bakteri. (*Catalase: (+) air bubbles are present. HCN: (+) brown spots on Whatmann paper; (++) orange Whatmann paper. Ammonia: (+) medium turns orange; (++) medium turns brownish yellow. Siderophore: (+) yellow-orange color appears around bacterial colonies*).

Uji Kandidat Isolat Unggul RPPT pada Tanaman Singkong

Hasil pengukuran tinggi tanaman singkong pada umur sekitar 10 minggu menunjukkan bahwa perlakuan pemberian inokulan rhizobakteri lebih tinggi dibandingkan kontrol. Rata-rata tanaman tertinggi ($94 \pm 5,56$ cm) pada perlakuan isolat PK AL 2.2 dan paling rendah pada perlakuan isolat TSB Kbm 2.10 ($80,33 \pm 1,52$ cm), sedangkan tinggi tanaman kontrol adalah $77 \pm 2,00$ cm (Tabel 4). Tinggi tanaman dengan pemberian isolat PK AL.2.2 menunjukkan perbedaan signifikan antar perlakuan kecuali dengan perlakuan isolat PK LAS 4A.4, PK. 4.1, PK 2.6 dan PK Kbm 6.1. Terdapat kecenderungan pemberian isolat bakteri pelarut P (kode isolat PK) lebih berpengaruh terhadap tinggi tanaman dibandingkan bakteri penghasil enzim protease (Pro) dan bakteri penghasil IAA (TSB).

Hasil penghitungan jumlah daun singkong juga menunjukkan bahwa hampir semua perlakuan lebih tinggi dibandingkan kontrol. Perlakuan yang menunjukkan hasil perbedaan signifikan yaitu isolat Pro AL 2.6, PK AL 2.2, dan PK LAS 3.7 dengan PK LAS 4A.4 dan TSB LAS 1A.6. Rata-rata jumlah daun tertinggi pada perlakuan pemberian isolat Pro AL 2.6 ($19,33 \pm 0,57$), PK AL 2.2 ($19,33 \pm 1,52$), PK LAS 3.7 ($19,33 \pm 0,57$) sedangkan jumlah pada kontrol sekitar $16,33 \pm 0,57$ lembar (Tabel 4). Kandungan klorofil pada perlakuan pemberian inokulan rhizobakteri secara umum lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 4). Kandungan klorofil pada daun yang diberi perlakuan inokulan rhizobakteri berkisar dari $36,78\text{--}44,31 \mu\text{g/cm}^2$, sedangkan pada kontrol hanya sekitar $31,15 \mu\text{g/cm}^2$.

Tabel 4. Pengaruh perlakuan kandidat isolat unggul RPPT terhadap rata-rata tinggi tanaman, jumlah daun dan klorofil pada tanaman singkong 10 MST. (*Effect of PGPR excellent isolate candidates on average plant height, leaf number and chlorophyll content 10 weeks after planting in cassava plants*).

Kode Perlakuan (Treatment Codes)	Tinggi Tanaman (cm) (Plant Height (cm))	Jumlah Daun (Leaf Number)	Klorofil (µg/cm ²) (Chlorophyll Content (µg/cm ²))
Kontrol	77 ± 2,00 ^a	16,33 ± 0,57 ^a	31,15 ± 1,76 ^a
Pro LAS 5A.3	85,67 ± 3,05 ^{bcd}	17,67 ± 0,57 ^{abcd}	44,31 ± 0,79 ^e
Pro LAS 4B.6	81 ± 2,64 ^{ab}	18,33 ± 0,57 ^{bcd}	41,31 ± 0,54 ^{cde}
Pro AL.2.6	84,67 ± 5,13 ^{bcd}	19,33 ± 0,57 ^d	40,02 ± 0,56 ^{bcd}
PK AL.2.2	94 ± 5,56 ^f	19,33 ± 1,52 ^d	36,78 ± 0,44 ^b
PK LAS 3.5	84,33 ± 1,52 ^{bcd}	17,67 ± 2,08 ^{abcd}	39,69 ± 3,53 ^{bcd}
PK LAS 4A.4	90,67 ± 2,51 ^{ef}	17,33 ± 1,15 ^{abc}	38,11 ± 2,28 ^{bc}
PK LAS 3.7	84,67 ± 3,05 ^{bcd}	19,33 ± 0,57 ^d	39,24 ± 4,16 ^{bcd}
TSB LTS 1B.3	81,67 ± 4,16 ^{abc}	18,33 ± 0,57 ^{bcd}	42,55 ± 3,09 ^{de}
TSB LAS 1A.6	83,33 ± 3,51 ^{abcde}	16,67 ± 0,57 ^{ab}	43,16 ± 0,73 ^{de}
PK 4.1	88,67 ± 3,78 ^{cdef}	19 ± 1,00 ^{cd}	44,46 ± 0,98 ^e
PK 5.1	83 ± 6,55 ^{abcd}	19 ± 1,00 ^{cd}	44,61 ± 3,47 ^e
TSB Kbm 2.10	80,33 ± 1,52 ^{ab}	18 ± 1,00 ^{abcd}	42,51 ± 2,16 ^{de}
TSB 2b	82 ± 4,58 ^{abc}	18,67 ± 0,57 ^{cd}	44,47 ± 1,87 ^e
PK 2.6	87,33 ± 4,72 ^{bcd}	18,67 ± 0,57 ^{cd}	40,04 ± 1,68 ^{bcd}
PK Kbm 6.1	89,67 ± 2,08 ^{def}	17,67 ± 0,57 ^{abcd}	40,09 ± 3,89 ^{bcd}

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda dalam satu kolom yang sama menunjukkan berbeda signifikan secara statistik P < 0,05. (Numbers followed by different letters in the same column indicate statistically significant difference P < 0.05).

Tabel 5. Pengaruh perlakuan kandidat isolat unggul RPPT terhadap rata-rata berat basah tanaman bagian atas, berat basah akar, dan berat basah tanaman total pada tanaman singkong. (*The influence of the PGPR excellent isolation candidate's treatment on the average wet weight of upper plants, wet weight of root and total plant wet weight of cassava plants*).

Kode Perlakuan (Treatment Codes)	Berat Basah Tanaman Bagian Atas (g) (Wet Weight of Upper Plants (g))	Berat Basah Akar (g) (Wet Weight of Root (g))	Berat Basah Tanaman Total (g) (Total Plant Wet Weight (g))
Kontrol	69 ± 4,86 ^a	6,39 ± 0,28 ^a	75,61 ± 4,60 ^a
Pro LAS 5A.3	86,15 ± 4,36 ^c	10,91 ± 1,68 ^c	97,06 ± 5,67 ^c
Pro LAS 4B.6	95,59 ± 2,23 ^d	11,37 ± 1,09 ^c	106,96 ± 2,44 ^d
Pro AL.2.6	82,22 ± 5,72 ^{bc}	9,86 ± 1,03 ^{bc}	92,08 ± 4,72 ^{bc}
PK AL.2.2	83,79 ± 4,28 ^{bc}	11,08 ± 0,74 ^c	94,87 ± 4,58 ^{bc}
PK LAS 3.5	76,21 ± 9,21 ^{ab}	10,09 ± 2,13 ^{bc}	86,31 ± 11,33 ^b
PK LAS 4A.4	82,19 ± 5,78 ^{bc}	7,14 ± 0,22 ^a	89,33 ± 5,12 ^{bc}
PK LAS 3.7	83,89 ± 2,74 ^{bc}	8,37 ± 0,29 ^{ab}	92,26 ± 2,90 ^{bc}

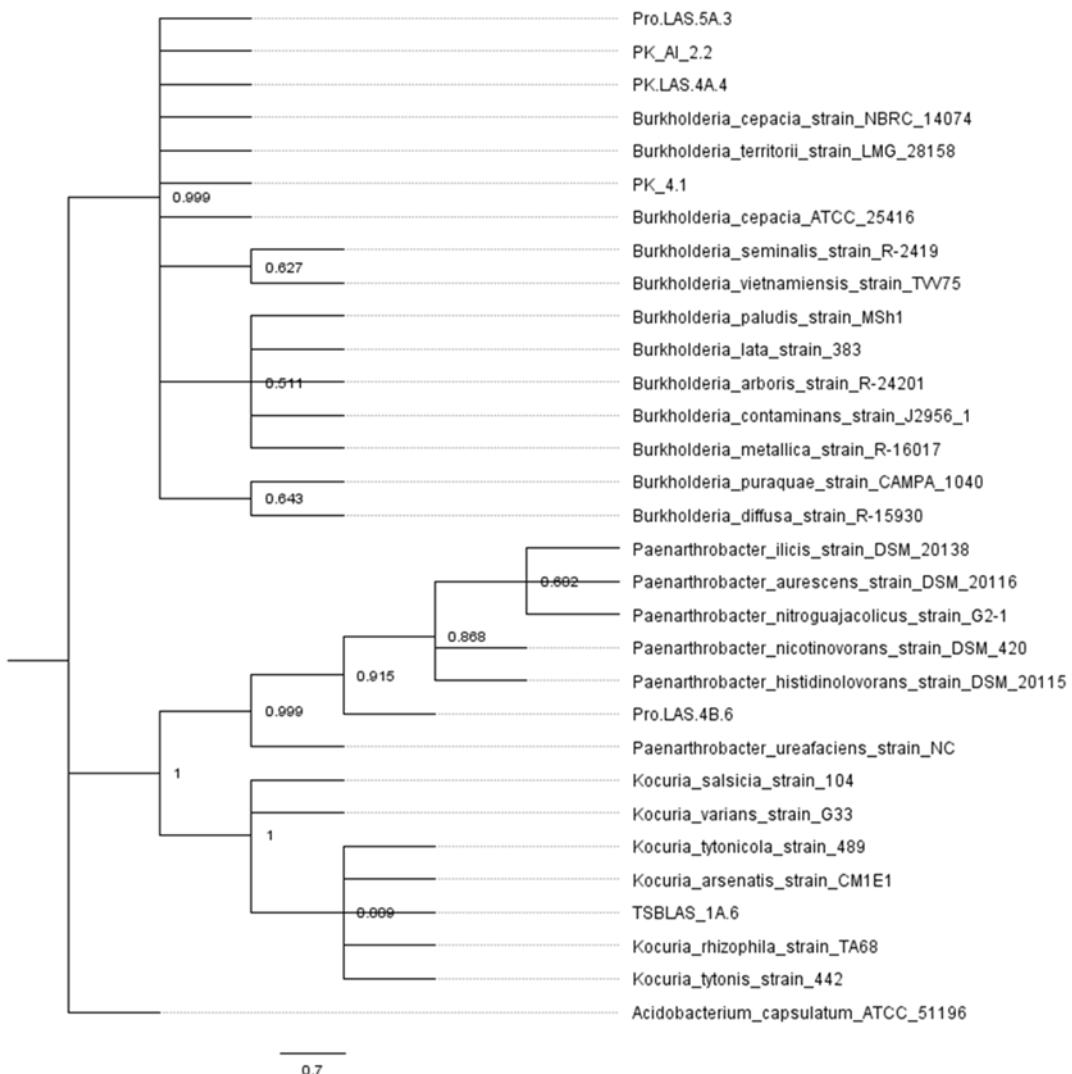
Tabel 5. Pengaruh perlakuan kandidat isolat unggul RPPT terhadap rata-rata berat basah tanaman bagian atas, berat basah akar, dan berat basah tanaman total pada tanaman singkong. (*The influence of the PGPR excellent isolation candidate's treatment on the average wet weight of upper plants, wet weight of root and total plant wet weight of cassava plants*).

Kode Perlakuan (Treatment Codes)	Berat Basah Tanaman Bagian Atas (g) (Wet Weight of Upper Plants (g))	Berat Basah Akar (g) (Wet Weight of Root (g))	Berat Basah Tanaman Total (g) (Total Plant Wet Weight (g))
TSB LTS 1B.3	79,29 ± 1,00 ^b c	7,56 ± 1,85 ^a	86,85 ± 1,33 ^b
TSB LAS 1A.6	80,41 ± 1,13 ^b c	9,81 ± 1,31 ^b c	90,22 ± 2,39 ^b c
PK 4.1	81,82 ± 5,00 ^b c	11,09 ± 0,99 ^c	92,91 ± 5,75 ^b c
PK 5.1	77,48 ± 4,85 ^a b ^c	8,11 ± 1,35 ^a b	85,59 ± 3,49 ^b
TSB Kbm 2.10	79,49 ± 5,13 ^b c	8,49 ± 0,77 ^a b	87,98 ± 5,85 ^b c
TSB 2b	76,87 ± 2,96 ^b c	10,22 ± 1,22 ^b c	86,50 ± 6,7 ^b
PK 2.6	78,64 ± 6,99 ^b c	8,24 ± 0,54 ^a b	86,50 ± 6,7 ^b
PK Kbm 6.1	81,92 ± 4,83 ^b c	10,36 ± 1,3 ^b c	92,28 ± 3,57 ^b c

Keterangan: Angka yang diikuti huruf yang berbeda dalam satu kolom yang sama menunjukkan berbeda signifikan secara statistik P < 0,05. (*Numbers followed by different letters in the same column indicate statistically significant difference P < 0.05*).

Berat basah akar dari tanaman yang diberi perlakuan rhizobakteri juga lebih tinggi dibanding kontrol. Tiga perlakuan dengan berat basah akar yang paling tinggi dan menunjukkan perbedaan signifikan dengan kontrol adalah Pro LAS 4B.6 (11,37 ± 1,09), PK 4.1 (11,09 ± 0,99) dan PK AL 2.2 (11,08 ± 0,74) (Tabel 5). Pada parameter berat basah tanaman bagian atas hasilnya cukup signifikan jika dibandingkan dengan kontrol. Beberapa perlakuan yang relatif tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol adalah perlakuan pemberian isolat Pro LAS 4B.6 (95,59 ± 2,23 g), Pro LAS

5A.3 (86,15 ± 4,36 g) dan PK LAS 3.7 (83,89 ± 2,74 g) (Tabel 5). Pada tanaman dengan perlakuan rhizobakteri berat basah tanaman total memiliki kecenderungan yang sama dengan dua parameter sebelumnya yaitu isolat Pro LAS 4B.6, Pro LAS 5A.3 dan PK AL 2.2 yang memberikan efek berbeda signifikan terhadap kontrol. Secara berturut-turut berat tanaman bagian atas dari pemberian isolat tersebut adalah 106,96 ± 2,44 g; 97,06 ± 5,67 g; 94,87 ± 4,58 g.



Gambar 1. Pohon filogenetik isolat Pro LAS 5A.3, PK AL.2.2, Pro LAS 4B.6, PK 4.1, PK LAS 4A.4 dan TSB LAS 1A.6 dengan metode *Maximum Likelihood* dan penyelarasan MUSCLE serta nilai bootstrap 1000.

Identifikasi Isolat Unggul

Berdasarkan hasil pengamatan efek perlakuan isolat bakteri terhadap tinggi tanaman, jumlah daun, klorofil, berat basah tanaman bagian atas, berat basah akar dan berat basah tanaman bagian atas pada tanaman singkong diperoleh enam isolat rhizobakteri dengan hasil yang signifikan dibandingkan dengan kontrol. Enam isolat tersebut dengan aktivitas unggulannya seperti tertulis pada Tabel 6.

Isolat unggul tersebut kemudian dilakukan identifikasi secara molekuler dan didapatkan hasil pohon filogenetik seperti yang tertera pada Gambar 1. Isolat Pro LAS 5A.3, PK AL.2.2, PK LAS 4A.4 dan PK 4.1 berada dalam satu kelompok keturunan

(clade) dengan *Burkholderia cepacia* dan *Burkholderia territorii*. Sedangkan isolat Pro LAS.4B.6 terlihat berada dalam 1 kelompok keturunan dengan beberapa spesies *Paenarthrobacter* spp., meskipun dalam Analisa BLAST, takson yang tertinggi yan paling mirip/similar adalah *Paenarthrobacter nicotinovorans*, tapi dalam filogenetik di atas, hanya sedikit perbedaan sekvens antara genus-genus tersebut. Isolat TSB LAS 1A.6 berada dalam 1 kelompok keturunan sangat dekat dengan *Kocuria rhizophyla* dan juga *Kocuria arsenatis*, *Kocuria tytonicola* dan *Kocuria tytonis*.

Tabel 6. Hasil identifikasi isolat unggul yang memiliki multiaktivitas dalam memacu pertumbuhan tanaman singkong. (*The results of identifying excellent isolates that have multi-activity in promoting cassava plant growth*).

Kode Isolat (Isolate Codes)	Aktivitas Unggulan (Highlighted Activity)	Identifikasi Isolat (Isolate Identification)
Pro LAS 5A.3	Enzim Protease, Pelarut P dan Penambat N	<i>Burkholderia cepacia</i>
Pro LAS 4B.6	Enzim Protease dan Penambat N	<i>Paenarthrobacter nicotinovorans</i>
PK AL.2.2	Enzim Protease, IAA dan Pelarut P	<i>Burkholderia</i> sp.
PK LAS 4A.4	Pelarut P; K, Enzim Protease dan Penambat N	<i>Burkholderia territorii</i>
TSB LAS 1A.6	Enzim Protease dan IAA	<i>Kocuria rhizophila</i>
PK 4.1	Pelarut P; K, Enzim Protease dan Penambat N	<i>Burkholderia territorii</i>

PEMBAHASAN

Lima belas (15) isolat rhizobakteri yang diuji pengaruhnya terhadap pertumbuhan stek batang singkong terlebih dahulu dikarakterisasi potensinya melalui uji aktivitas secara kualitatif yang meliputi : pelarut P, K, penambat N, penghasil hormon tumbuh IAA, penghasil enzim protease, katalase, ACC Deaminase, penghasil amonia, siderofor dan HCN. Empat isolat rhizobakteri (TSB Kbm 2.10, TSB 2b, PK 2.6 PK Kbm 6.1) telah diuji juga pengaruhnya terhadap pertumbuhan tanaman umbi (Agustiyani *et al.*, 2019). Aktivitas yang diuji merupakan karakter yang dimiliki oleh kelompok bakteri RPPT yang secara langsung ataupun tidak langsung mendukung pertumbuhan dan kesehatan tanaman. Rhizobakteri memiliki mekanisme langsung dalam memacu pertumbuhan tanaman berupa produksi fitohormon, pelarutan fosfat, fiksasi nitrogen, produksi amonia dan siderofor (Mekonnen dan Kibret, 2021). Nitrogen merupakan unsur yang banyak tersedia di alam dalam bentuk gas N₂. Tanaman dapat menggunakan gas tersebut untuk memenuhi kebutuhan N dengan bantuan mikroorganisme. Pada penelitian ini terdapat sembilan (9) rhizobakteri yang dapat menambat N. Rhizobakteri penambat N secara kualitatif dindikasikan dengan kemampuannya merubah warna media NFb menjadi biru. Lima (5) dari total sembilan isolat dapat merubah warna media NFb dengan pertumbuhan koloni lebih tebal sehingga diprediksi dapat melakukan aktivitas lebih baik. Dalam penelitian ini terdapat dua belas (12) isolat yang mempunyai aktivitas pelarut fosfat. Fosfor (P) merupakan nutrien esensial setelah N yang dibutuhkan oleh tanaman. Proses fiksasi yang tinggi diikuti difusi yang lambat menjadi salah satu sifat khas fosfor sehingga menjadikan unsur ini sebagai faktor pembatas pertumbuhan tanaman (Shen *et al.*, 2011). Selain itu bentuk fosfor yang terdapat di dalam tanah dalam keadaan tidak tersedia untuk tanaman (Kumar dan Ram, 2014).

Bakteri memiliki peran penting dalam molarutkan dan memineralisasi fosfor sehingga membantu ketersediaan unsur tersebut bagi tanaman (Alori *et al.*, 2017).

Sebanyak enam (6) isolat rhizobakteri memiliki aktivitas kemampuan molarutkan K. Unsur K menempati urutan ketiga nutrien yang dibutuhkan untuk pertumbuhan tanaman. Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Xu *et al.*, 2020) pemenuhan unsur K yang tepat dapat meningkatkan efisiensi penggunaan nitrogen melalui aktivitas enzimatik metabolisme C dan N, fotosintesis, asimilasi dan transpor nitrat. Di dalam tanah unsur K yang belum terlarut lebih besar dibandingkan dengan yang terlarut (Kaur, 2019). Fakta tersebut membuat keberadaan rhizobakteri pelarut K menjadi penting karena dapat membantu nutrien untuk mudah diserap oleh tanaman.

Rhizobakteri selain dapat membantu pemenuhan unsur N, P dan K juga dapat mendukung pertumbuhan tanaman melalui produksi hormon tumbuh (IAA) dan enzim ACC Deaminase. Pada beberapa penelitian hormon tumbuh IAA memiliki efek seperti meningkatkan biomassa akar dan tunas; panjang akar, berat basah akar, berat kering tunas, tinggi tanaman (Etesami *et al.*, 2014; Chandra *et al.*, 2018; Park *et al.*, 2021). Dalam penelitian ini terdapat tujuh (7) isolat dengan kemampuan produksi IAA pada rentang 22–104 ppm. Rhizobakteri yang mampu tumbuh pada media DF yang diperkaya ACC merupakan indikasi adanya aktivitas enzim ACC Deaminase. Enzim ini memiliki fungsi untuk memecah ACC (prekursor etilen) menjadi α -ketobutirat dan amonia sehingga dapat menurunkan cekaman etilen (Honma dan Shimomura, 1978; Glick *et al.*, 2007; Glick, 2014).

Perlindungan ketahanan tanaman dari cekaman biotik seperti patogen dapat dibantu oleh berbagai aktivitas rhizobakteri, antara lain aktivitas enzim protease, katalase, aktivitas produksi HCN, amonia

dan siderofor. Protease adalah salah satu enzim hidrolitik yang mampu menghancurkan dinding sel (Jadhav *et al.*, 2017). Lima (5) isolat rhizobakteri memiliki kemampuan produksi protease cukup tinggi, diindikasikan dengan diameter zona jernih lebih dari 1,51 cm, enam (6) isolat memiliki diameter pada rentang $1,01 < x \leq 1,5$ cm sedangkan satu isolat pada rentang diameter $0,5 \leq x \leq 1,0$ cm. Dilaporkan oleh Mokashe dan Patil (2016) bahwa indikasi zona jernih aktivitas protease dapat sebanding dengan unit enzim tersebut. Penelitian terkait kemampuan rhizobakteri dalam aktivitas produksi amonia, HCN, enzim katalase dan siderofor dapat menghambat pertumbuhan jamur dan bakteri patogen bahkan viabilitas nematoda parasit (Abd El-Rahman *et al.*, 2019; Hyder *et al.*, 2020; Kashyap *et al.*, 2021). Isolat PK AL. 2.2 dan PK 5.1 yang berasal dari rhizosfer tanaman singkong dan temu lawak memiliki aktivitas enzim katalase, HCN, produksi amonia dan siderofor.

Hasil pengukuran berbagai parameter menunjukkan bahwa pemberian inoculan rhizobakteri berpengaruh terhadap pertumbuhan vegetatif tanaman singkong dan kandungan klorofil pada daun singkong. Kandungan klorofil pada perlakuan pemberian inoculan rhizobakteri secara umum lebih tinggi dan berbeda nyata dengan kontrol (Tabel 4). Analisis klorofil adalah salah satu parameter biokimia yang penting, kandungan klorofil merupakan indikasi aktivitas fotosintesis dan metabolisme. Inokulasi bakteri RPPT terbukti dapat meningkatkan kandungan klorofil tanaman kentang (Battool *et al.*, 2020). Selain itu pemberian bakteri RPPT pada tanaman singkong juga meningkatkan tinggi tanaman dan jumlah daun (Suja *et al.*, 2014). Dalam penelitian ini secara umum perlakuan bakteri RPPT memberikan respon yang signifikan terhadap kontrol pada parameter tinggi tanaman dan jumlah daun. Isolat PK AL 2.2 memberikan efek paling tinggi pada dua parameter tersebut dan masih lebih tinggi jika dibandingkan dengan penelitian (Suja *et al.*, 2014) dengan parameter yang sama.

Perlakuan bakteri RPPT juga memiliki pengaruh signifikan terhadap kontrol pada parameter berat basah tanaman bagian atas, berat basah akar dan berat basah tanaman total. Isolat Pro LAS 4B.6 dan Pro LAS 5A.3 dapat meningkatkan berat basah tanaman bagian atas dalam rentang 24–38 % dibandingkan kontrol sementara isolat Pro LAS 4B.6, PK 4.1 dan PK AL 2.2 meningkatkan berat basah akar sekitar 73–77 % dibandingkan kontrol. Isolat bakteri Pro LAS 4B.6 juga unggul pada parameter berat basah tanaman total dengan persentase peningkatan 41 %. Pengaruh pemberian bakteri RPPT pada tanaman juga dilaporkan oleh Suja *et al.* (2014) yang menyatakan bahwa isolat bakteri memberikan pengaruh signifikan pada

biomassa tanaman. Selain itu Dawwam *et al.* (2013) menyatakan pemberian isolat menunjukkan respon signifikan terhadap kontrol pada parameter berat basah akar.

Berdasarkan hasil penelitian ini terdapat enam (6) isolat bakteri RPPT unggulan dari parameter pengamatan yang digunakan. Isolat tersebut yaitu Pro LAS 5A.3 (*Burkholderia cepacia*), Pro LAS 4B.6 (*Paenarthrobacter nicotinovorans*), PK AL 2.2 (*Burkholderia* sp.), PK LAS 4A.4 (*Burkholderia territorii*), TSB LAS 1A.6 (*Kocuria rhizophila*) dan PK 4.1 (*Burkholderia territorii*). Genus *Burkholderia* tergolong bakteri RPPT selain anggota genus *Azospirillum*, *Pseudomonas* dll (Bhattacharyya dan Jha, 2012). Penelitian lain juga menyebutkan bahwa genus *Paenarthrobacter* dan *Kocuria* dalam aplikasinya memberikan efek atau memiliki aktivitas pemacu pertumbuhan pada tanaman (Li *et al.*, 2020; Sherpa *et al.*, 2021; Pirapak *et al.*, 2022).

KESIMPULAN

Enam isolat rhizobakteri yang terdiri dari lima isolat yang diisolasi dari perakaran tanaman singkong (Pro LAS 5A.3, Pro LAS 4B.6, PK AL 2.2, PK LAS 4A.4, TSB LAS 1A.6) dan satu isolat dari tanaman talas (PK 4.1) memiliki aktivitas terbaik dalam mendukung pertumbuhan tanaman secara langsung maupun tidak langsung, meliputi aktivitas pelarutan P dan K, penambat N, produksi IAA, enzim protease, enzim ACC Deaminase, enzim katalase, amonia, HCN dan siderofor. Keenam bakteri tersebut dapat dikategorikan sebagai isolat unggulan karena secara signifikan meningkatkan pertumbuhan tanaman dan kandungan klorofil daun. Oleh karena itu enam isolat rhizobakteri dapat menjadi kandidat agen hayati pupuk organik hayati, khususnya tanaman singkong.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh kegiatan Insentif Riset Sistem Inovasi Nasional (INSINAS) pada tahun 2018–2019 *flagship* LIPI. Ucapan terimakasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi Republik Indonesia atas dukungan kegiatan penelitian tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Abd El-Rahman, A.F., Shaheen, H.A., Abd El-Aziz, R.M and Ibrahim, D.S.S., 2019. Influence of hydrogen cyanide-producing rhizobacteria in controlling the crown gall and root-knot nematode, *Meloidogyne incognita*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0143-7>

- Agbodjato, N.A., Noumavo, P.A., Baba-Moussa, F., Salami, H.A., Sina, H., Sézan, A., Bankolé, H., Adjanohoun, A and Baba-Moussa, L., 2015. Characterization of potential plant growth promoting rhizobacteria isolated from Maize (*Zea mays* L.) in central and Northern Benin (West Africa). *Applied and Environmental Soil Science*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/901656>
- Agustiyani, D., Aviyani, L., Nditasari, A., Dewi, T.K and Antonius, S., 2019. Screening of potential bacteria as specific biofertilizer agent for tuber plants. *Nusantara Bioscience*, 11(1), 112–116. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n110119>
- Ali, S.Z., Sandhya, V and Rao, L.V., 2014. Isolation and characterization of drought-tolerant ACC Deaminase and exopolysaccharide-producing fluorescent *Pseudomonas* sp. *Annals of Microbiology*, 64(2), 493–502. <https://doi.org/10.1007/s13213-013-0680-3>
- Alori, E.T., Glick, B.R and Babalola, O.O., 2017. Microbial phosphorus solubilization and its potential for use in sustainable agriculture. *Frontiers in Microbiology*, 8(JUN), 1–8. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00971>
- Backer, R., Rokem, J.S., Ilangumaran, G., Lamont, J., Praslickova, D., Ricci, E., Subramanian, S and Smith, D.L., 2018. Plant growth-promoting rhizobacteria: Context, mechanisms of action, and roadmap to commercialization of biostimulants for sustainable agriculture. *Frontiers in Plant Science*, 87(October), 1–17. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01473>
- Baldani, J.I., Reis, V.M., Videira, S.S., Boddey, L.H and Baldani, V.L.D., 2014. The art of isolating nitrogen-fixing bacteria from non-leguminous plants using N-free semi-solid media: a practical guide for microbiologists. *Plant and Soil*, 384(1–2), 413–431. <https://doi.org/10.1007/s11104-014-2186-6>
- Batool, T., Ali, S., Seleiman, M.F., Naveed, N.H., Ali, A., Ahmed, K., Abid, M., Rizwan, M., Shahid, M.R., Alotaibi, M., Al-Ashkar, I and Mubashar, M., 2020. Plant growth promoting rhizobacteria alleviates drought stress in potato in response to suppressive oxidative stress and antioxidant enzymes activities. *Scientific Reports*, 10(1), 1–20. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73489-z>
- Bayata, A., 2019. Review on Nutritional Value of Cassava for Use as a Staple Food. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 7(4), 83. <https://doi.org/10.11648/j.sjac.20190704.12>
- Bhattacharyya, P.N and Jha, D.K., 2012. Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Emergence in agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28(4), 1327–1350. <https://doi.org/10.1007/s11274-011-0979-9>
- Castric, P.A., 1974. Hydrogen cyanide, a secondary metabolite of *Pseudomonas aeruginosa*. *Canadian Journal of Microbiology*, 21(5), 613–618. <https://doi.org/10.1139/m75-088>
- Chandra, S., Askari, K and Kumari, M., 2018. Optimization of indole acetic acid production by isolated bacteria from *Stevia rebaudiana* rhizosphere and its effects on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 581–586. <https://doi.org/10.1016/j.jgeb.2018.09.001>
- Chu, W.H., 2007. Optimization of extracellular alkaline protease production from species of *Bacillus*. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 34(3), 241–245. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0192-2>
- Dawwam, G.E., Elbeltagy, A., Emara, H.M., Abbas, I.H and Hassan, M.M., 2013. Beneficial effect of plant growth promoting bacteria isolated from the roots of potato plant. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(2), 195–201. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2013.07.007>
- Direktorat Jenderal Tanaman Pangan., 2020. *Laporan Tahunan Direktorat Jenderal Tanaman Pangan*. Kementerian Pertanian
- Dworkin, M and Foster, J.W., 1958. Experiments with some microorganisms which utilize ethane and hydrogen. *Journal of Bacteriology*, 75(5), 592–603. <https://doi.org/10.1128/jb.75.5.592-603.1958>
- Ebewore, S.O and Isiorhovoja, R.A., 2019. Knowledge Status and Disease Control Practices of Cassava Farmers in Delta State, Nigeria: Implications for Extension Delivery. *Open Agriculture*, 4(1), 173–186. <https://doi.org/10.1515/opag-2019-0017>
- El-Sharkawy, M.A., 2004. Cassava biology and physiology. *Plant Molecular Biology*, 56, 481–501.
- Etesami, H., Hosseini, H.M., Alikhani, H.A and Mohammadi, L., 2014. Bacterial Biosynthesis of 1-Aminocyclopropane-1-Carboxylate (ACC) Deaminase and Indole-3-Acetic Acid (IAA) as Endophytic Preferential Selection Traits by Rice Plant Seedlings. *Journal of Plant Growth Regulation*, 33(3), 654–670. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9415-3>
- Freitas, M.A., Medeiros, F.H.V., Carvalho, S.P., Guilherme, L.R.G., Teixeira, W.D., Zhang, H. and Paré, P.W., 2015. Augmenting iron accumulation in cassava by the beneficial soil bacterium *Bacillus subtilis* (GBO3). *Frontiers in Plant Science*, 6(AUG), 1–7. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00596>
- Freitas, M.A., Medeiros, F.H.V., Melo, I.S.,

- Pereira, P.F., Peñaflor, M.F.G.V., Bento, J.M.S and Paré, P.W., 2019. Stem inoculation with bacterial strains *Bacillus amyloliquefaciens* (GB03) and *Microbacterium imperiale* (MAIIF2a) mitigates Fusarium root rot in cassava. *Phytoparasitica*, 47(1), 135–142. <https://doi.org/10.1007/s12600-018-0706-2>
- Glick, B.R., 2014. Bacteria with ACC Deaminase can promote plant growth and help to feed the world. *Microbiological Research*, 169(1), 30–39. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.09.009>
- Glick, B.R., Cheng, Z., Czarny, J and Duan, J., 2007. Promotion of plant growth by ACC Deaminase-producing soil bacteria. *European Journal of Plant Pathology*, 119(3), 329–339. <https://doi.org/10.1007/s10658-007-9162-4>
- Gordon, S.A and Weber, R.P., 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiology*, 26(1), 192–195. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90514-5](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90514-5)
- Gravel, V., Antoun, H and Tweddell, R.J., 2007. Growth stimulation and fruit yield improvement of greenhouse tomato plants by inoculation with *Pseudomonas putida* or *Trichoderma atroviride*: Possible role of indole acetic acid (IAA). *Soil Biology and Biochemistry*, 39(8), 1968–1977. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.02.015>
- Gupta, R., Singal, R., Shankar, A., Kuhad, R.C and Saxena, R.K., 1994. A modified plate assay for screening phosphate solubilizing microorganisms. *Journal of General and Applied Microbiology*, 40(3), 255–260. <https://doi.org/10.2323/jgam.40.255>
- Hamid, B., Zaman, M., Farooq, S., Fatima, S., Sayyed, R.Z., Baba, Z.A., Sheikh, T.A., Reddy, M.S., Enshasy, H. El, Gafur, A and Suriani, N.L., 2021. Bacterial plant biostimulants: A sustainable way towards improving growth, productivity, and health of crops. *Sustainability (Switzerland)*, 13(5), 1–24. <https://doi.org/10.3390/su13052856>
- Honma, M and Shimomura, T., 1978. Metabolism of 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid. *Agricultural and Biological Chemistry*, 42(10), 1825–1831. <https://doi.org/10.1080/00021369.1978.10863261>
- Hyder, S., Gondal, A.S., Rizvi, Z.F., Ahmad, R., Alam, M.M., Hannan, A., Ahmed, W., Fatima, N and Inam-ul-Haq, M., 2020. Characterization of native plant growth promoting rhizobacteria and their anti-oomycete potential against *Phytophthora capsici* affecting chilli pepper (*Capsicum annuum* L.). *Scientific Reports*, 10(1), 1–15. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-69410-3>
- Jadhav, H., Shaikh, S.S and Sayyed, R.Z., 2017. Role of Hydrolytic Enzymes of Rhizoflora in Biocontrol of Fungal Phytopathogens: An Overview. In S. Mehnaz (Ed.), *Rhizotrophs: Plant Growth Promotion to Bioremediation* (Issue January 2018). Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-4862-3>
- Kashyap, A.S., Manzar, N., Rajawat, M.V.S., Kesharwani, A.K., Singh, R.P., Dubey, S.C., Pattanayak, D., Dhar, S., Lal, S.K and Singh, D., 2021. Screening and biocontrol potential of rhizobacteria native to gangetic plains and hilly regions to induce systemic resistance and promote plant growth in chilli against bacterial wilt disease. *Plants*, 10(10). <https://doi.org/10.3390/plants10102125>
- Kaur, H., 2019. Forms of Potassium in Soil and their Relationship with Soil Properties- A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 8(10), 1580–1586. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2019.810.184>
- Kumar, G.K and Ram, M.R., 2014. Phosphate Solubilizing Rhizobia Isolated from *Vigna trilobata*. *American Journal of Microbiological Research*, 2(3), 105–109. <https://doi.org/10.12691/ajmr-2-3-4>
- Kumar, K., Amaresan, N., Bhagat, S., Madhuri, K and Srivastava, R.C., 2011. Isolation and characterization of rhizobacteria associated with coastal agricultural ecosystem of rhizosphere soils of cultivated vegetable crops. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(7), 1625–1632. <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0616-z>
- Laili, N dan Agustiyani, D., 2016. Karakterisasi dan uji aktivitas biokontrol bakteri endofit dari Lombok terhadap kapang patogen *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. *Prosiding Seminar Nasional II Tahun 2016, Kerjasama Prodi Pendidikan Biologi FKIP Dengan Pusat Studi Lingkungan Dan Kependudukan (PSLK) Universitas Muhammadiyah Malang*, 707–717.
- Li, X., Sun, P., Zhang, Y., Jin, C and Guan, C., 2020. A novel PGPR strain *Kocuria rhizophila* Y1 enhances salt stress tolerance in maize by regulating phytohormone levels, nutrient acquisition, redox potential, ion homeostasis, photosynthetic capacity and stress-responsive genes expression. *Environmental and Experimental Botany*, 174(January), 104023. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2020.104023>
- Louden, B.C., Haarmann, D and Lynne, A.M., 2011. Use of Blue Agar CAS Assay for Siderophore Detection. *Journal of Microbiology and Biology Education*, 12(1), 51–53. <https://doi.org/10.1128/jmbe.v12i1.249>
- Masciarelli, O., Llanes, A and Luna, V., 2014. A

- new PGPR co-inoculated with *Bradyrhizobium japonicum* enhances soybean nodulation. *Microbiological Research*, 169(7–8), 609–615. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.10.001>
- Mekonnen, H and Kibret, M., 2021. The roles of plant growth promoting rhizobacteria in sustainable vegetable production in Ethiopia. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00213-y>
- Mokashe, N.U and Patil, U.K., 2016. Quantitative Protease Assay By Substrate-Agarose Plate Method. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(2), 791–793. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2016.6.2.791-793>
- Mustafa, S., Kabir, S., Shabbir, U and Batool, R., 2019. Plant growth promoting rhizobacteria in sustainable agriculture: from theoretical to pragmatic approach. *Symbiosis*, 78(2), 115–123. <https://doi.org/10.1007/s13199-019-00602-w>
- Natthiya, B., Mathukorn, S., Kanjana, T., Dusit, A., Alain, B and Claude, P., 2013. The plant growth promoting bacterium *Bacillus* sp. CaSUT007 produces phytohormone and extracellular proteins for enhanced growth of cassava. *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), 4949–4954. <https://doi.org/10.5897/ajmr12.1839>
- Park, S., Kim, A.L., Hong, Y.K., Shin, J.H and Joo, S.H., 2021. A highly efficient auxin-producing bacterial strain and its effect on plant growth. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s43141-021-00252-w>
- Pikovskaya, R.I., 1948. Mobilization of phosphorus in soil in connection with vital activity of some microbial species. *Mikrobiologiya*, 17, 362–370.
- Pirapak, W., Siriphap, A., Inprasit, T., Phuang Sri, C and Kraivuttinun, P., 2022. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria from rhizospheric soil of selected pulses and their effect on *Coriandrum sativum* plants. *Biodiversitas*, 23(11), 5765–5770. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d231129>
- Prajapati, K.B and Modi, H.A., 2012. Isolation and characterization of potassium solubilizing bacteria from ceramic industry soil. *CIBTech Journal of Microbiology*, 1(2–3), 8–14. <https://doi.org/10.31018/jans.v8i2.861>
- Rajawat, M.V.S., Singj, S., Tyagi, S.P and Saxena, A.K., 2016. A Modified Plate Assay for Rapid Screening of Potassium-Solubilizing Bacteria. *Pedosphere*, 26(5), 768–773. [https://doi.org/10.1016/S1002-0160\(15\)60080-7](https://doi.org/10.1016/S1002-0160(15)60080-7)
- Reiner, K., 2010. *Catalase Test Protocol* (Issue 11 November 2010). <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3226-catalase-test-protocol>
- Saleh, N., 2012. Pengendalian hama penyakit terpadu pada ubikayu. In *Iptek Pertanian Seri 1*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian.
- Shen, J., Yuan, L., Zhang, J., Li, H., Bai, Z., Chen, X., Zhang, W and Zhang, F., 2011. Phosphorus dynamics: From soil to plant. *Plant Physiology*, 156(3), 997–1005. <https://doi.org/10.1104/pp.111.175232>
- Sherpa, M.T., Bag, N., Das, S., Haokip, P and Sharma, L., 2021. Isolation and characterization of plant growth promoting rhizobacteria isolated from organically grown high yielding pole type native pea (*Pisum sativum* L.) variety Dentami of Sikkim, India. *Current Research in Microbial Sciences*, 2, 100068. <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100068>
- Suharko, S and Hudayana, B., 2020. Rural Woman and Food Security: Diversification of Cassava-Based Foods in Gunungkidul District, Yogyakarta. *Sodality: Jurnal Sosiologi Pedesaan*, 8(2), 1–14. <https://doi.org/10.22500/8202029845>
- Suja, S.P., Hegde, V., Makeshkumar, T and Anjanadevi, I.P., 2014. Screening of Rhizobacteria Associated with Cassava for Plant Growth Promotion and Biocontrol Potential
- Sukmadewi, D.K.T., Suharjono dan Antonius, S., 2015. Uji Potensi Bakteri Penghasil Hormon IAA (Indole Acetic Acid) dari Tanah Rhizosfer Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.). *Jurnal Biotropika*, 3(2), 91–94.
- Volpiano, C.G., Lisboa, B.B., de São José, J.F.B., Beneduzi, A., Granada, C.E and Vargas, L.K., 2022. Soil-plant-microbiota interactions to enhance plant growth. *Revista Brasileira de Ciencia Do Solo*, 46, 1–20. <https://doi.org/10.36783/18069657rbcs20210098>
- Xu, X., Du, X., Wang, F., Sha, J., Chen, Q., Tian, G., Zhu, Z., Ge, S and Jiang, Y., 2020. Effects of Potassium Levels on Plant Growth, Accumulation and Distribution of Carbon and Nitrate Metabolism in Apple Dwarf Rootstock Seedlings. *Frontiers in Plant Science*, 11(June),